

**Einfluss von fluoridfreien, nanohydroxylapatithaltigen  
und fluoridierten Zahnpasten auf die  
Re- und Demineralisationseigenschaften von Dentin und Schmelz *in situ***

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Dr. med. dent.

an der Medizinischen Fakultät  
der Universität Leipzig

eingereicht von: Julia Paulina Musiol

Geburtsdatum / Geburtsort: 27.05.1996 in Köln

angefertigt an: Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie des  
Universitätsklinikums Leipzig

Betreuer: Prof. Dr. Marcella Esteves Oliveira

Beschluss über die Verleihung des Doktorgrades vom: 24.11.2021

*Meinen Eltern:*

*Dr. med. dent. Katarzyna Jedras-Musiol und Dr. med. dent. Mariusz Musiol*



## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einführung .....</b>	<b>1</b>
1.1	<b>Die Zahnhartsubstanz .....</b>	<b>1</b>
1.1.1	Schmelz - Chemische Zusammensetzung .....	1
1.1.2	Dentin - Chemische Zusammensetzung .....	2
1.2	<b>Karies .....</b>	<b>3</b>
1.2.1	Definition und Ätiologie .....	3
1.2.2	Demineralisation der Zahnhartsubstanz .....	4
1.2.3	Histologie einer Schmelzkaries .....	5
1.2.4	Histologie einer Dentinkaries .....	5
1.2.5	Prädilektionsstellen einer Karies .....	6
1.3	<b>Fluoride .....</b>	<b>7</b>
1.3.1	Grundlagen .....	7
1.3.2	Die kariesprotektive Wirkung von Fluoriden .....	9
1.3.3	Dosis-Wirkungs-Beziehung von Fluoriden .....	11
1.4	<b>Nanokristalliner Hydroxylapatit bzw. Zink-Carbonat-Hydroxylapatit als neue protektive Maßnahme in der Kariesprophylaxe .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>Aufgabenstellung.....</b>	<b>16</b>
<b>3</b>	<b>Materialien und Methoden.....</b>	<b>17</b>
3.1	Probandenstruktur und ethische Aspekte der Studie .....	17
3.2	Probenherstellung .....	18
3.3	Herstellung der Dünnschliffe .....	20
3.4	Untersuchung und Auswertung mittels transversaler Mikroradiographie .....	22
3.5	Randomisierung .....	24
3.6	Intraorale Apparaturen .....	25
3.7	Gruppeneinteilung der verwendeten Substanzen .....	26
3.8	Fluoridanalyse der verwendeten Substanzen .....	27
3.9	In-situ-Phase .....	28
3.10	Statistische Auswertung .....	30
<b>4</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>31</b>
4.1	<b>Ergebnisse der TMR-Analyse.....</b>	<b>31</b>
4.1.1	Auswertung der Probengrundwerte nach der In-vitro-Demineralisation .....	31

4.1.2	Auswertung der Effektwerte nach der In-situ-Phase.....	31
4.1.3	Auswertung der Differenzen des Mineralverlustes und der Läsionstiefen .....	34
<b>4.2</b>	<b>Mineralprofile .....</b>	<b>37</b>
<b>4.3</b>	<b>Auswertung des Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten .....</b>	<b>40</b>
4.3.1	Die Korrelation zwischen Fluoridkonzentration und Mineralverlust ( $\Delta\Delta Z$ ) .....	40
4.3.2	Korrelation zwischen Grundwert und $\Delta\Delta Z$ bzw. $\Delta LT$ von Dentin .....	41
<b>4.4</b>	<b>Auswertung des Zahnpastaverbrauchs und des freien Fluoridgehalts.....</b>	<b>42</b>
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>43</b>
<b>5.1</b>	<b>Diskussion der Ergebnisse .....</b>	<b>43</b>
<b>5.2</b>	<b>Diskussion von Material und Methode.....</b>	<b>47</b>
5.2.1	Versuche mit bovinen Zahnproben und künstlichen Läsionen .....	47
5.2.2	Die Mineraldichte der Proben als zusätzlicher Einflussfaktor .....	48
5.2.3	Design des In-situ-Modells.....	49
5.2.4	Anzahl der Proben in der In-situ-Apparatur .....	50
<b>5.3</b>	<b>Schlussfolgerung .....</b>	<b>51</b>
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>52</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>54</b>
<b>8</b>	<b>Anlagen .....</b>	<b>64</b>
8.1	Darstellung der randomisierten Zuteilung der Zahnpasten .....	64
8.2	Ernährungs- und Trageprotokoll.....	65
<b>9</b>	<b>Selbstständigkeitserklärung .....</b>	<b>67</b>
<b>10</b>	<b>Publikationen .....</b>	<b>68</b>
<b>11</b>	<b>Danksagung .....</b>	<b>69</b>

**Abkürzungsverzeichnis**

cm	Zentimeter
DB	demineralisierte behandelte Oberfläche
D <sub>H</sub>	hoch demineralisierte Dentinläsion
D <sub>N</sub>	niedrig demineralisierte Dentinläsion
F <sup>-</sup>	Fluorid-Ionen
g	Gramm
GB	gesunde behandelte Oberfläche
Gew%	Gewichtsprozent
GK	gesunde Kontrolloberfläche
h	Stunde
KHN	Knoop hardness number
LT <sub>Effekt</sub>	Läsionstiefe einer Effektprobe nach der In-situ-Phase [µm]
LT <sub>Grundwert</sub>	Läsionstiefe einer Ausgangsproben nach der In-vitro-Demineralisation (vor der In-situ-Phase) [µm]
mA	Milliampere
mg/l	Milligramm pro Liter
Min.	Minute
ml/min	Milliliter pro Minute
mm	Millimeter
mmol/l	Millimol pro Liter
mol	Angabe der molaren Masse
mV	Millivolt

---

NaF <sub>0</sub>	Natriumfluoridfreie Zahnpasta
NaF <sub>1100</sub>	Natriumfluoridhaltige Zahnpasta mit 1100 ppm F <sup>-</sup>
NaF <sub>5000</sub>	Natriumfluoridhaltige Zahnpasta mit 5000 ppm F <sup>-</sup>
nHA <sub>0</sub>	fluoridfreie und nanohydroxylapatithaltige Zahnpasta
kV	Kilovolt
ppm	Teile pro Millionen (parts per million)
PSI	Parodontaler Screening Index
Sek.	Sekunde
S <sub>H</sub>	hoch demineralisierte Schmelzprobe
TMR	Transversale Mikroradiographie
U/min	Umdrehung pro Minute
Vol. %	Volumenprozent
Vol. %×μm	Volumenprozent pro Mikrometer (Einheit des Mineralverlustes)
ΔZ <sub>Effekt</sub>	Mineralverlust einer Effektprobe nach der In-situ-Phase [Vol%×μm]
ΔZ <sub>Grundwert</sub>	Mineralverlust einer Ausgangsproben nach der In-vitro- Demineralisation (vor der In-situ-Phase) [Vol%×μm]
μm	Mikrometer

## 1 Einführung

### 1.1 Die Zahnhartsubstanz

#### 1.1.1 Schmelz - Chemische Zusammensetzung

Zahnschmelz ist ein azelluläres Gewebe und umgibt das Dentin im koronalen Bereich des Zahnes. Es ist die härteste Substanz (250-390 KHN) des menschlichen Organismus und besteht zu 93-98 Gew.-% aus anorganischen Bestandteilen. Dabei handelt es sich überwiegend um Kalzium- und Phosphatverbindungen, sowie geringen Anteilen an Magnesium, Karbonat, Natrium, Kalium und Chlorid. Das Kalziumphosphat liegt in Form von regelmäßig angeordneten Hydroxylapatitkristallen ( $(\text{Ca}_{10-x}\text{PO}_6)_x \times \text{X}_2 \times \text{H}_2\text{O}$ ) vor (Gwinnett, 1992; Hellwig et al., 2009). Allerdings variiert die Zusammensetzung des Hydroxylapatits aufgrund von häufigen Substitutionsreaktionen. Dabei werden die Kalzium-, Phosphat- oder Hydroxylionen unter anderem durch Fluorid, Karbonat und Magnesium substituiert. Fluorhydroxylapatit hat eine geringere Löslichkeit als Hydroxylapatit, das wiederum eine geringere Löslichkeit als Karbonathydroxylapatit und Magnesiumhydroxylapatit hat (Meyer-Lueckel et al., 2012). Die Apatitkristalle des Zahnschmelzes besitzen einen annähernd hexagonalen Querschnitt und sind durchschnittlich 160 nm lang, 40-70 nm breit und 26 nm dick (Hellwig, et al., 2009). Die Kristalle sind in Form von Prismen angeordnet, und zwar mit einem ungefähren Durchmesser von 4-5  $\mu\text{m}$ . Sie verlaufen parallel ausgerichtet von der Schmelz-Dentin-Grenze bis fast zur Schmelzoberfläche. In der Peripherie verlaufen sie in eine entgegengesetzte Richtung, wo sie sich untereinander verzahnen können und eine äußerst stabile Verbindung darstellen (Meyer-Lueckel, et al., 2012; Schumacher, 1990). Der zweitgrößte Bestandteil ist Wasser, wobei die Mengenangaben zwischen 1,5 und 4 Gew.-% schwanken. Der Wasseranteil des Schmelzes liegt zum Teil in der Hydratationsschale der Apatitkristalle (ca. 75%) vor oder gebunden an der organischen Materie (ca. 25%) (Gwinnett, 1992). Dieses Wasser kann weitestgehend frei zwischen den Apatitkristallen, im sogenannten Porenvolumen hindurchdiffundieren. Bei diesem Flüssigkeitsstrom kann ein Ionenaustausch stattfinden (Waters, 1971). Im gesunden Schmelz beträgt das durchschnittliche Porenvolumen 0,1% (1-10 nm) und enthält ebenfalls organische Materie (Orams et al., 1976). In der Peripherie liegt aufgrund der abgeneigten Anordnung der

Prismen ein größeres Porenvolumen vor. Da das Porenvolumen zudem als Diffusionsweg für Säuren und Ionen fungiert, findet ein Mineralverlust bei einem Säureangriff, bedingt durch die Porengröße, initial im oberflächlichen Bereich statt. (Robinson et al., 2000; ten Cate & Featherstone, 1991). Das organische Material macht etwa 1 Gew.-% aus und setzt sich aus Proteinen, Lipiden und Spuren von Kohlenhydraten, Zitrat und Laktat zusammen (Hellwig, et al., 2009).

### **1.1.2 Dentin - Chemische Zusammensetzung**

Dentin macht den größten Teil des menschlichen Zahnes aus. Es umgibt die Pulpa, wird koronal von Zahnschmelz und im Wurzelbereich vom Zahnzement bedeckt. Das Dentin bildet eine funktionelle Einheit mit der Pulpa und ist somit ein vitales und physiologisch aktives Gewebe, dass mit Hilfe der Odontoblasten und den gebildeten extrazellulären Matrixproteinen während der gesamten Lebensdauer reizbedingten Umbauprozessen unterliegt (Goldberg & Smith, 2004; Hellwig et al., 2018). Es setzt sich zu 70 Gew.-% aus anorganischen, zu 20 Gew.-% aus organischen Bestandteilen und zu 10 Gew.-% aus Wasser zusammen (Goldberg et al., 2011). Der anorganische Anteil besteht hauptsächlich aus Phosphat und Kalzium, das in einer kristallinen Form als Hydroxylapatit vorliegt (Hellwig, et al., 2018). In diesem Hydroxylapatitgitter liegen zudem andere Ionen wie Hydrogenphosphat, Karbonat und Magnesiumionen vor. Der erhöhte Karbonatanteil (5,5%) des Dentins im Vergleich zum Schmelz (3,3%) bedingt, dass die Dentinkristalle eine erhöhte Säureanfälligkeit aufweisen (Lussi et al., 2012). Wiederum können diese Ionen durch andere Ionen, wie zum Beispiel Fluorid substituiert werden (Meyer-Lueckel, et al., 2012). Die Dentinkristalle sind mit einer Länge von circa 20 nm, einer Breite von 18-20 nm und eine Dicke von 3,5 nm erheblich kleiner als die des Zahnschmelzes. Die Hydroxylapatit-Kristalle des Dentins liegen im Gegensatz zu den prismenförmig angeordneten Kristallen des Schmelzes, je nach Dentinstruktur dicht gepackt beieinander, wodurch das Dentin hochelastisch und verformbar ist (Hellwig, et al., 2009; Xu & Wang, 2012). Der organische Anteil fungiert als eine Matrix, die durch Hydroxylapatitkristalle verstärkt wird und setzt sich zum Großteil aus Kollagen Typ I (~90%) und einem geringen Anteil aus nicht-kollagenen Proteinen (8-9%) zusammen (Goldberg, et al., 2011; Jones & Leaver, 1974).

## 1.2 Karies

### 1.2.1 Definition und Ätiologie

Karies ist eine lokalisierte Erkrankung des Zahnartgewebes, die durch potenziell pathogene Mikroorganismen und potenziell pathogene ökologische Faktoren entsteht. Es ist neben der Parodontitis die häufigste Erkrankung des Mundraumes (Hellwig, et al., 2018; Reich, 2001). Mit der **chemoparasitären Theorie** von Miller (1898) wurden erstmals Mikroorganismen als Ursache einer Karies berücksichtigt. Als erst entdecktes Pathogen galten insbesondere Laktobazillen. Diese Mikroorganismen sind in der Lage niedermolekulare Kohlenhydrate besonders schnell in organische Säuren umzuwandeln (azidogen) und in niedrigen pH-Wert Bedingungen zu überleben (azidurisch). Eine längere und häufige Einwirkzeit der Säuren führt letztendlich zu einem Abfall des pH-Wertes und damit zu einer Demineralisation der Zahnhartsubstanz (Featherstone, 2004b). Weiterführende Untersuchungen führten zu der Annahme einer **spezifischen Plaquehypothese**, die als alleinige Ursache einer Karies die Infektion mit spezifischen pathogenen Keimen wie zum Beispiel *Streptococcus mutans* begründet (Fitzgerald et al., 1960; Keyes, 1960). Darauf bezogen deutet die **unspezifische Plaquehypothese** auf die Bakterienmenge hin und nicht auf die Bakterienqualität (Loesche, 1976). Die **ökologische Plaquehypothese** begründet die Entstehung einer Karies hingegen damit, dass die in der Mundhöhle vorkommenden Mikroorganismen wie z.B. *Streptococcus mutans* ihre pathogenen Eigenschaften erst entfalten, wenn deren Wachstum durch eine übermäßige zuckerreiche Ernährung begünstigt wird (Fejerskov, 2004; Marsh, 1994). Die aktuellste Kariestheorie orientiert sich zum einen an der ökologischen Plaquehypothese und berücksichtigt zudem, dass es sich um eine multifaktoriell bedingte Erkrankung handelt (Featherstone, 1999). In dem Modell zur Ätiopathogenese der Karies von Paris & Meyer-Lückel werden die multifaktoriellen Einflüsse zum einen in indirekte Faktoren wie zum Beispiel den Bildungsstand, der sozioökonomischen Status, das Alter und zum anderen in direkte Faktoren wie die Mundhygiene, Fluoride und die Wirtsabwehr unterteilt. Aus diesem Modell (Abbildung 1) wird deutlich, dass eine Störung des Gleichgewichtes zwischen De- und Remineralisation entscheidend dafür ist, ob eine Karies entsteht. Dieses Gleichgewicht wird durch pathogene Faktoren (rot) und protektive Faktoren (grün) beeinflusst und erklärt weshalb sich eine kariöse

Läsion in einer Phase der Stagnation, Remission oder Progression befinden kann (Hellwig, et al., 2018; Paris & Meyer-Lueckel, 2012).

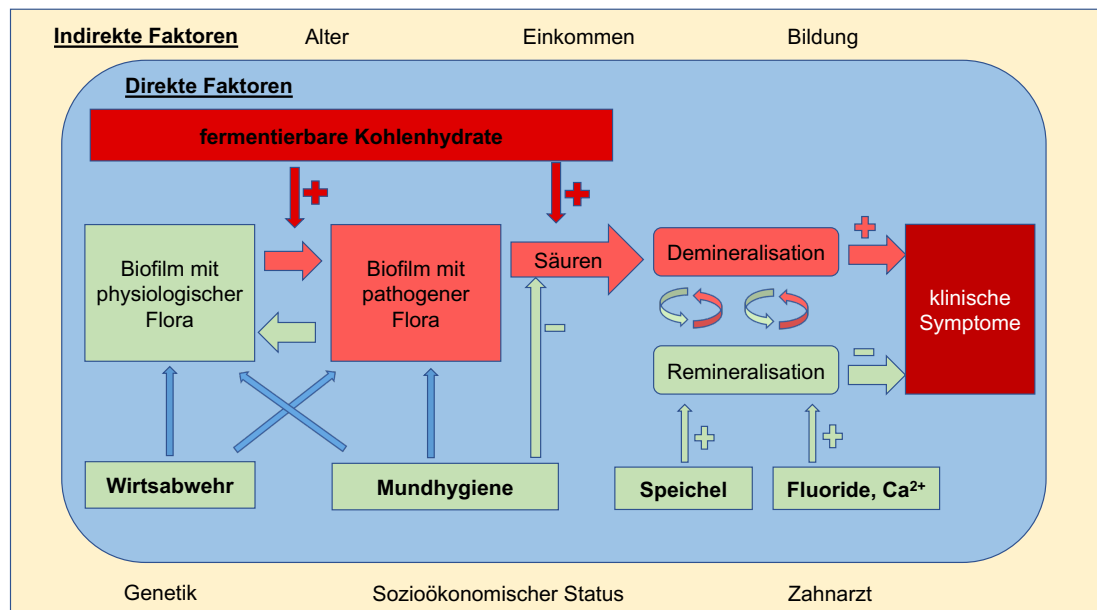


Abbildung 1: Aktuelles Kariesmodell verändert nach Paris & Meyer-Lückel (2012)

### 1.2.2 Demineralisation der Zahnhartsubstanz

Bei einem Überangebot an niedermolekularen Kohlenhydraten beginnen sich die säureproduzierenden Mikroorganismen zu vermehren und es bildet sich ein pathogener Biofilm aus (Featherstone, 2004a). Durch die Produktion von organischen Säuren kommt es zu einer Dissoziation von H<sup>+</sup>-Ionen, wodurch der pH-Wert der Plaqueflüssigkeit sinkt. Fällt der pH-Wert unterhalb des sogenannten kritischen pH-Wertes kommt es zu einem Säureangriff auf die Zahnhartsubstanz und somit zu einer Demineralisation (Buzalaf et al., 2011; Dawes, 2003). Aufgrund der unterschiedlichen chemischen Zusammensetzung von Schmelz und Dentin liegt der kritische pH-Wert für Schmelz bei ungefähr 5,5 und für Dentin bei circa 6,3 (Lussi, et al., 2012). Oberhalb des kritischen pH-Wertes wird eine Auflösung gestoppt und die Zahnhartsubstanz remineralisiert. Die Säuren diffundieren in die Zahnhartsubstanz und entsprechend des Konzentrationsgefälle werden Kalzium, Phosphat und Karbonat Ionen herausgelöst (Dawes, 2003; ten Cate, 1994). Infolgedessen wird durch die Auflösung der Apatitkristalle das Porenvolumen vergrößert, wodurch



darauffolgende Säureangriffe in tiefer gelegene Schichten der Zahnhartsubstanz begünstigt werden (Featherstone, 2004b).

### 1.2.3 Histologie einer Schmelzkaries

Das histologische Bild einer Schmelzkaries lässt sich anhand von Dünnschliffen einer initialen Schmelzläsion und mit Hilfe der Durchlicht-Polarisationsmikroskopie, sowie zwei Imbitionsmedien (Wasser und z.B. Chinolin) in vier voneinander abgrenzbare Zonen darstellen. Die klassischen Zonen der Schmelzkaries werden aufgrund der unterschiedlichen Porenvolumina und der Darstellung von innen nach außen betrachtet als die transluzente Zone, die dunkle Zone, der Läsionskörper und die pseudointakte Oberflächenschicht identifiziert (Silverstone, 1973). In der transluzenten Zone ist das Porenvolumen auf bis zu 1% erhöht, im Gegensatz zu dem Porenvolumen von 0,1% im gesunden Zahnschmelz (Darling, 1958). Nach der transluzenten Zone folgt in Richtung Schmelzoberfläche die dunkle Zone, die sich in der Durchlichtmikroskopie als dunkel und bräunlich darstellt. Das Porenvolumen beträgt 2-4%, wobei kleinere Poren teilweise remineralisieren können (Silverstone, 1973). Der Läsionskörper zeigt den höchsten Grad an Demineralisation und kann ein Porenvolumen von bis zu 25% aufweisen (Schroeder, 2000). Mithilfe der Mikroradiografie kann zudem der Mineralgehalt des Läsionskörpers dargestellt werden, wohingegen eine Auswertung der im Polarisationsmikroskop sichtbaren dunklen und der transluzenten Zone nicht möglich ist. Grund dafür ist, dass in diesen Zonen keine abrupten Änderungen im Mineralgehalt vorliegen (Meyer-Lueckel, et al., 2012). Die äußerste Zone einer Schmelzkaries ist die pseudointakte Oberflächenschicht, welche unter dem Mikroskop als intakt erscheint. Sie ist durchschnittlich 10-50 µm dick, kann aber auch eine Dicke von bis zu 120 µm erreichen (Meyer-Lueckel et al., 2007b). In dieser Zone finden Remineralisationsprozesse statt, sodass sie einen relativ hohen Mineralstoffgehalt und ein Porenvolumen von weniger als 5% aufweist (Bergman & Lind, 1966).

### 1.2.4 Histologie einer Dentinkaries

Eine Karies kann das Dentin bereits vor der Kavitätenausbildung erreichen. Dabei diffundieren bakterielle Toxine und Enzyme über die Schmelzläsion und

breiten sich über die Dentinkanälchen aus. Es entsteht eine kegelförmige Läsion an der Basis der Schmelz-Dentin-Grenze. In-situ-Studien zeigen, dass eine Läsion im Dentin mehr als doppelt so schnell fortschreitet wie im Schmelz. Ursächlich dafür könnten zum einen die erhöhte Löslichkeit des Dentins sein, eine höhere Konzentration von Verunreinigungen, die niedrigere Kristallinität und die vorhandenen Dentinkanälchen (Ogaard et al., 1988a; Shellis, 1996). Dentin wird mit seinen Odontoblastenfortsätzen als ein vitales Gewebe angesehen (Kamal et al., 1997). Im Zuge eines kariösen Reizes wird an der Pupla-Dentin-Grenze durch die Odontoblasten Tertiärdentin gebildet. Dieser Effekt führt zu einem größeren Abstand zwischen der Karies und der Pulpa (Meyer-Lueckel, et al., 2012). Die Progression einer Karies ruft im Dentin histologisch betrachtet bis zu sechs Zonen hervor. Von zentral nach peripher erscheint zunächst das neugebildete Tertiärdentin, dass von einer Schicht normalen Dentins überlagert wird. Es folgt die Zone der Sklerose, eine odontoblastenfreie Zone (dead tract) und die Zone der Demineralisation. Die Zone der Demineralisation hat einen geringeren Mineralgehalt (etwa 25 Vol.-% geringer) als das sklerotische Dentin (Meyer-Lueckel, et al., 2012). Im weiteren Verlauf entsteht die Zone der Penetration, wobei Mikroorganismen in die Dentinkanälchen eindringen. Letztendlich tritt die Zone der Nekrose auf, wobei das Dentin erweicht und verflüssigt ist (Hellwig, et al., 2009). Bei einem Anhalten Reiz und Voranschreiten der Bakterien in Richtung Pulpa, kann diese mit einer irreversiblen Pulpitis reagieren (Shovelton, 1972).

### **1.2.5 Prädispositionsstellen einer Karies**

Die Entstehung einer Karies ist vor allem dann begünstigt, wenn ein pathogener Biofilm über einen längeren Zeitraum auf der Zahnhartsubstanz verbleibt (Fejerskov, 1997). Bei Betrachtung eines Zahnes zählen die Okklusalfächen, die Grübchen, die Approximalfächen und bei älteren Patienten die freiliegende Wurzeloberfläche zu den sogenannten Kariesprädispositionsstellen (Meyer-Lueckel, et al., 2012). Diese Regionen werden oftmals bei der Zahnpflege vernachlässigt und unterliegen nicht der natürlichen Selbstreinigung durch die Zunge und Wangenschleimhaut (Splieth et al., 2010). Insbesondere bei den Approximalfächen gibt es drei makromorphologische Charakteristika, die die Kariesentstehung begünstigen. Zum einen ist die Größe und Anordnung des

Approximalkontaktes entscheidend, wobei ein ausgedehnter Kontaktbereich kariesfördernd ist (Ekstrand et al., 2007). Zudem können an den Approximalflächen konkave Krümmungen auftreten oder Parafissuren, die zu einem ungleichmäßigen Kontakt beitragen, sodass die Anhaftung eines Biofilms ebenfalls begünstigt wird (Meyer-Lueckel, et al., 2012).

## 1.3 Fluoride

### 1.3.1 Grundlagen

Fluor gehört zu der chemischen Gruppe der Halogene und ist ein reaktionsfreudiges Nichtmetall. Zum Erlangen einer vollständig besetzten äußeren Elektronenschale fehlt dem Fluor ein weiteres Elektron, welches es zum Beispiel durch eine Verbindung mit einem Metall wie Kalzium erlangt. In diesem Fall spricht man von Fluorid bzw. Kalziumfluorid ( $\text{CaF}_2$ ). Der Fluoridgehalt wird allgemein in Teilen pro Millionen (ppm) angegeben. Ein ppm entspricht 1 mg Fluorid pro Kilogramm oder Liter (Twetmann & Ekstrand, 2012). Fluorid ist ein natürlicher Bestandteil der Umgebung und wird zum Teil über das Trinkwasser und die Nahrung aufgenommen. Der Trinkwasserfluoridgehalt beträgt in Deutschland zwischen 0,02 und 1,8 mg/l und im Durchschnitt nimmt ein erwachsener Mensch täglich 0,5-0,8 mg Fluorid mit der Nahrung auf. Zu den besonders fluoridhaltigen Nahrungsmitteln gehören Tee, Fisch und fluoridiertes Trinkwasser (Hellwig, et al., 2018; Waugh et al., 2017). Von dem aufgenommenen Fluorid werden ca. 60-80% über den Verdauungstrakt resorbiert und in die Blutbahn diffundiert. Anschließend zeigt das Fluorid eine besonders hohe Affinität zum Skelettknochen und zum Zahnhartgewebe.

Grundsätzlich unterscheidet man zwei Formen der Fluoridverabreichung in Bezug auf die Zahnhartsubstanz. Zum einen die systemische Fluoridierung (Tabletten, Trinkwasser, Kochsalz), wobei Fluorid über den Magen-Darm-Trakt resorbiert wird und während der präeruptiven Reifung in die Zahnhartsubstanz eingebaut wird. Zum anderen die lokale Fluoridierung (Zahnpasten, Gele, Lacke, Lösungen), wobei nach dem Durchbruch der Zähne (posteruptiv) das Fluorid direkt auf die Oberfläche appliziert wird (Hellwig, et al., 2018).

Anfang der 40er Jahre zeigten epidemiologische Untersuchungen, dass ein Trinkwasserfluoridgehalt von 0,6 ppm  $\text{F}^-$  zu einer Kariesreduktion von 50% beiträgt im Vergleich zu Gebieten mit 0,2 ppm  $\text{F}^-$  (Arnold et al., 1953; Dean et al.,

1950; Dirks, 1974). Diese Entdeckung führte anfangs zu der Annahme, dass die präventive Wirkung von Fluorid auf eine Karies hauptsächlich durch die präeruptiven Vorgänge begründet sei. Durch die Substitution der  $\text{OH}^-$ -Ionen im Hydroxylapatit der Zahnhartsubstanz durch zugeführte  $\text{F}^-$ -Ionen entsteht Fluorapatit, das eine kompaktere Kristallstruktur aufweist, da die  $\text{F}^-$ -Ionen kleiner sind (Frazier et al., 1967; Newesely, 1963). Durch den verbesserten Kristallinitätsgrad wird die Säurelöslichkeit von Fluorapatit erhöht, sodass es erst ab einem pH-Wert von etwa 4,7 löslich wird, im Gegensatz zu reinem Hydroxylapatit das bereits bei einem pH-Wert kleiner als 5,5 demineralisiert (Brown et al., 1977; Lussi, et al., 2012). Eine histologische Untersuchung von Schmelzoberflächen von Personen, die in Gebieten mit einem hohen Fluoridgehalt im Trinkwasser aufwuchsen, ergaben jedoch dass es nur einen sehr geringen Unterschied im Fluoridgehalt (1%) gibt im Vergleich zu den Schmelzoberflächen aus Regionen mit einer geringeren Fluoridexposition (Kidd et al., 1980). Zudem wurde in einer In-situ-Studie belegt, dass Haifischzähne, die fast ausschließlich aus reinem Fluorapatit bestehen, in der menschlichen Mundhöhle ähnliche Kariesläsionen aufwiesen wie der humane Zahnschmelz (Ogaard et al., 1988b). Aus dem Zusammenhang, dass die präeruptive Fluorideinlagerung zum einen sehr gering und außerdem nicht ausreichend sei, um eine kariöse Läsion vorzubeugen, ist man zu der Überlegung gekommen, dass der primäre kariesprotektive Effekt hauptsächlich auf den posteruptiven Mechanismen beruht.

In Bezug auf die Prävention und Kontrolle einer Zahnkaries nehmen Fluoride aus heutiger Sicht eine Schlüsselrolle ein. Die Entdeckung des antikariogenen Effektes von Fluoridverbindungen zählt demnach zu einer der wichtigsten Meilensteine in der Geschichte der Zahnmedizin (Fejerskov, 2004). Ein wissenschaftlicher Konsens bestätigt, dass der regelmäßige Gebrauch und eine verbreitete Verwendung von fluoridierter Zahnpasta hauptsächlich für den deutlichen Rückgang der Karies während der letzten Jahrzehnte des 20. Jahrhunderts ist (Bratthall et al., 1996). Ebenso ergab eine umfangreiche systematische Übersichtsarbeit, dass die kariespräventive Wirkung durch die regelmäßige Anwendung einer fluoridhaltigen Zahnpasta der Konzentrationen 1000, 1055, 1100 und 1250 ppm  $\text{F}^-$  im Vergleich zur Placebo-Anwendung signifikant ansteigt und bei 23 % liegt. Bei höheren Fluoridkonzentrationen (2400, 2500, 2800 ppm  $\text{F}^-$ ) steigt dieser Wert auf 36% an (Walsh et al., 2019). Zusätzlich

zu der Anwendung von Fluoriden konnte außerdem ein signifikanter antikariogener Effekt durch die kombinierte Behandlung mit Fluoriden und einem CO<sub>2</sub>-Laser, sowohl auf Dentin- als auch auf Zahnschmelzoberflächen, nachgewiesen werden (Esteves-Oliveira et al., 2017a; Esteves-Oliveira et al., 2011b; Esteves-Oliveira et al., 2009).

### 1.3.2 Die kariesprotektive Wirkung von Fluoriden

Die am häufigsten verwendeten Fluoridverbindungen in Zahnpasten sind Natriumfluorid (NaF), Natriummonofluorophosphat (Na<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>F) und Aminfluorid (AmF). Es liegen jedoch keine sicheren wissenschaftlichen Belege vor, die eine bestimmte Fluoridverbindung als wirksamer darstellen (Twetmann & Ekstrand, 2012). Das eigentliche kariesprophylaktische Agens ist das Fluoridion und die damit verbundenen Wirkungsmechanismen in der Mundhöhle. Nach einer lokalen Fluoridapplikation mit einem leicht säuerlichen Mundhygieneartikel kommt es zu einer Präzipitation von Kalzium aus dem oberflächlichen Hydroxylapatit des Zahnes. Das freigewordene Kalzium reagiert mit dem Fluorid aus dem Präparat und es entsteht eine CaF<sub>2</sub>-Schicht, die als Fluoridreservoir dient (Buzalaf, et al., 2011; Fischer et al., 1995; Rolla, 1988). Diese CaF<sub>2</sub>-Schicht wird wiederum durch den pH-Wert, die Fluoridkonzentration des Präparates, durch die Kontaktzeit mit der Zahnhartsubstanz, die Art der Trägersubstanz, die Kationenwirkung und die lokale Zusammensetzung der Zahnhartsubstanz beeinflusst (Hellwig, et al., 2018).

Einer der bedeutendsten Wirkungsmechanismen von Fluoriden ist die Senkung der Demineralisation und die Förderung des Remineralisierungsprozesses der Zahnhartsubstanz (Fischer, et al., 1995; ten Cate & van Loveren, 1999). In der Mundhöhle herrscht ein dynamisches pH-Wert-Gleichgewicht, wobei es zum einen durch die metabolische Aktivität von Mikroorganismen bei verfügbaren Kohlenhydraten zu einem pH-Wert Abfall kommt und durch den anschließenden Abtransport der Metaboliten und Pufferung des Speichels zu einem pH-Wert Anstieg (Bowen, 2013). Kommt es somit zu einem Säureangriff und damit zu einer Demineralisationsphase, kann die ausgebildete CaF<sub>2</sub>-Schicht auf der Zahnoberfläche und die daran angrenzende Schicht aus Speichelproteinen und Phosphat als Diffusionsbarriere dienen und den Beginn einer Demineralisation modifizieren (ten Cate, 1997). Zunächst binden die Protonen das stabilisierende

Phosphat und anschließend werden Fluorid-Ionen aus der  $\text{CaF}_2$ -Schicht herausgelöst, die entweder mit dem Speichel abtransportiert werden oder sich in der Plaque und der Zahnhartsubstanz anreichern (Ogaard, 1990; Rolla, 1988). Die  $\text{CaF}_2$ -Schicht dient als Fluorid-Lieferant während eines kariösen Angriffs und zum anderen in pH-Wert ( $> 5,5$ ) unkritischen Phasen, wobei sich fluoridiertes Hydroxylapatit ausbildet und die kristalline Oberfläche ähnliche Eigenschaften wie Fluorapatit erhält (Featherstone et al., 1983; Fischer, et al., 1995; Hicks et al., 2004). Im übertragenden Sinne schützen die freien Fluorid-Ionen die Kristalloberfläche durch Oberflächenabsorption vor einer Auflösung durch Säuren. Die nicht von der schützenden  $\text{CaF}_2$ -Schicht bedeckten Areale werden hingegen bei einem kariösen Angriff aufgelöst (Arends & Christoffersen, 1990; Buzalaf, et al., 2011). Wird der kritische pH-Wert überstiegen, finden Remineralisierungsprozesse statt. Diese können ebenfalls positiv durch Fluoride beeinflusst werden, in dem es zu einer Substitution von Fluorid-Ionen an den freigebliebenen Bindungsstellen des Hydroxylapatits kommt und sich säureresistenteres fluoridiertes Hydroxylapatit ausbildet (Buzalaf, et al., 2011; Lussi, et al., 2012). Zudem kann es zu einer Neubildung von Hydroxylapatit durch Ausfällung von im Speichel gelösten Kalzium, Phosphat und  $\text{OH}^-$ -Ionen kommen (Hellwig, et al., 2009).

Diese Remineralisationsprozesse können ebenfalls positiv durch die Zahnumgebung beeinflusst werden, wie zum Beispiel durch eine Plaquekontrolle, eine weniger häufige Zuckeraufnahme und gut zugängliche Approximalkontakte (Shellis, 2012). Zwei entscheidende intraorale Faktoren, die die Re- bzw. demineralisierung einer Läsion beeinflussen, scheinen zudem die Fließrate und die Zusammensetzung des Speichels zu sein (Dijkman et al., 1986). Die Fluoridkonzentration des gesamten Speichels im Ruhezustand beträgt circa 0,005-0,05 ppm  $\text{F}^-$  (Oliveby et al., 1990). Die Fluoridkonzentration der Plaque kann zwischen 13-55  $\mu\text{g F}^-/\text{g}$  aufweisen (Tatevossian, 1980). Diese Fluoridkonzentrationen können zum Beispiel durch die Anwendung einer fluoridierten Zahnpasta erhöht werden, wobei die Clearance-Zeit von der Fluoridmenge der Zahnpasta abhängig ist (Bruun et al., 1984; Zero et al., 1992). In Bezug auf das Wachstum kariogener Bakterien gibt es jedoch kaum Belege dafür, dass bestimmte Fluoridkonzentrationen eine Hemmwirkung haben (Brading et al., 2004).

### 1.3.3 Dosis-Wirkungs-Beziehung von Fluoriden

Auf bereits demineralisierten Schmelzoberflächen entfaltet sich der Fluoridwirkungsmechanismus schneller als auf gesunden Oberflächen. Durch eine initiale Läsion und die daraus resultierende Oberflächen- und Porenvergrößerung können die Fluoride noch besser in die Zahnhartsubstanz diffundieren und an mehr freiliegenden spezifischen und unspezifischen Bindungsstellen (z.B. in den Hydrathüllen der Kristalle) binden (White & Nancollas, 1990). Werden nun zum Beispiel hochkonzentrierte Fluoridpräparate appliziert, bildet sich eine ausgeprägte  $\text{CaF}_2$ -Schicht an der Läsionsoberfläche aus (Hellwig et al., 1985). Das abgelagerte Kalziumfluorid beschränkt eine weitere Diffusion von Speichelmineralien über die Poren in die Tiefe der Läsion und verhindert damit eine Remineralisation des Läsionskörpers (Hellwig, et al., 2018; Lagerweij & ten Cate, 2002). Erst bei einem erneuten pH-Wert Abfall beginnt diese  $\text{CaF}_2$ -Schicht zu dissoziieren und ionisches Fluorid wird wieder freigesetzt (Rolla et al., 1993). Im Gegensatz dazu weisen jedoch zahlreiche Studien darauf hin, dass höhere Konzentrationen an Fluorid zu einer erheblichen Remineralisierung beitragen können. In einer 3-jährigen klinischen Doppelblindstudie mit 3000 schottischen Kinder, im Alter zwischen 12 und 15 Jahren, wurde die kariesprotektive Wirkung durch das Zähneputzen mit einer 1000, 1500 und 2500 ppm fluoridhaltigen Zahnpasta untersucht. Dabei konnte bereits eine signifikante Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Fluoridkonzentration und der Kariesprävalenz festgestellt werden (Stephen et al., 1988). In einer weiteren randomisierten klinischen Doppelblindstudie wurde über 3 Jahre bei insgesamt 5439 Grundschulkinder aus Ohio (USA) die antikariogene Wirkung von Zahnpasten mit den Konzentration 1100, 1700, 2200 und 2800 ppm  $\text{F}^-$  untersucht. Bereits nach dem ersten Studienjahr wurde in der Gruppe der 2200 ppm  $\text{F}^-$  Zahnpasta eine Reduktion des DMFS-Wertes von 18,6% und mit der 2800 ppm  $\text{F}^-$  Zahnpasta von 20,4% festgestellt. Daraus wurde geschlussfolgert, dass hochfluoridierte Zahnpasten eine signifikant höhere antikariogene Wirkung haben als eine 1100 ppm  $\text{F}^-$  Zahnpasta (Biesbrock et al., 2001). In der klinischen Studie von Baysan et. al (2001) wurden Wurzelkariesläsionen durch eine 5000 ppm fluoridhaltige Zahnpasta signifikant besser remineralisiert als mit einer 1100 ppm  $\text{F}^-$  Zahnpasta. Zudem war der Plaque-Index in der 5000 ppm  $\text{F}^-$ -Gruppe signifikant geringer (Baysan et al., 2001). Vergleichbare Ergebnisse wurden ebenfalls in einer In-vivo-Studie von

Lynch et al. (2000) festgestellt (Lynch et al., 2000). Basierend auf der aktuellen Studienlage konnte in einer systematischen Übersichtsarbeit von Wierichs & Meyer-Lückel (2015) festgestellt werden, dass die regelmäßige Anwendung einer 5000 ppm fluoridhaltigen Zahnpasta das Fortschreiten einer Wurzelkariesläsionen wirksamer verringert als die Anwendung einer 1100 bis 1450 ppm F<sup>-</sup> Zahnpasta (Wierichs & Meyer-Lueckel, 2015).

Weiterführend wurden die Beobachtung bezüglich einer Fluorid-Dosis-Wirkungs-Beziehung in einer randomisierten In-situ-Kreuzstudie untersucht. Dafür trugen 16 Probanden eine intraorale Unterkieferapparatur mit insgesamt 8 bovinen prädemineralisierten Schmelzproben für je 4 Wochen. Die Proben wiesen zu Beginn eine einheitliche Läsionstiefe und einen einheitlichen Mineralverlust auf. Die Verwendung einer 1360, 1450, 500 und 0 ppm fluoridhaltigen Zahnpasta zeigte eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für Fluorid auf und eine weitere Demineralisierung wurde aufgehalten (Meyer-Lueckel et al., 2015a). Zudem wurde in einer pH-zyklischen In-vitro-Studie von Wierichs et. al (2018b) die Fragestellung beleuchtet, inwiefern die Tiefe einer Läsion und der Mineralverlust einen Einfluss auf die Fluoridwirkung haben könnten. Dafür wurden prädemineralisierte Schmelzproben mit einer niedrigen und tiefen Läsion bezüglich der Remineralisationseigenschaften unter Verwendung von hochfluoridierten Zahnpasten untersucht. Die Ergebnisse der transversalen mikroradiographischen Auswertung ergaben, dass die tiefen Läsionen eine größere Mineralverlustveränderung nach der In-vitro-Phase aufwiesen als die niedrig demineralisierten Schmelzproben. Daraus wurde geschlossen, dass die Remineralisationseigenschaften des Zahnschmelzes ebenfalls von der Ausgangssubstratbedingung abhängig sind. Zudem konnte in dieser Studie eine moderate Korrelation zwischen der Mineralverlustveränderung und der Fluoridkonzentration beobachtet werden (Wierichs et al., 2018b).

Aufgrund der fehlenden Forschungsergebnisse bezüglich der Fragestellung, welche Fluoridkonzentrationen bei welchen Substratbedingungen die größte Remineralisation erzielen können, sollten unbedingt weitere In-vitro- und In-situ-Studien durchgeführt werden.



#### **1.4 Nanokristalliner Hydroxylapatit bzw. Zink-Carbonat-Hydroxylapatit als neue protektive Maßnahme in der Kariesprophylaxe**

In der Zahnmedizin wurden aktuell in zahlreichen Studien die Vorteile von Nanopartikeln für verschiedene Mundhygieneartikel erforscht, um diese als eine mögliche Kariesprävention und Alternative zu fluoridhaltigen Artikeln zu integrieren. Es wird unter anderem untersucht, ob Nanopartikel dabei helfen könnten ein besseres Biofilmmangement zu ermöglichen und eine initiale Kariesläsion zu remineralisieren (Hannig & Hannig, 2010).

Nanopartikel sind Strukturen mit einer Größe von 1 bis 100 nm. Durch ihre geometrische Beschaffenheit und Größe, besitzen sie abgewandelte Eigenschaften im Vergleich zu größeren Werkstoffen. Die Größe eines Partikels bestimmt die Anzahl der Oberflächenatome, wobei die Anzahl dieser Atome mit sinkender Größe zunimmt. Zudem sind diese Oberflächenatome äußerst reaktionsfreudig und bilden bevorzugt Komplexe aus (De Jong & Borm, 2008; Schulenburg, 2008). In Bezug auf die Zahnhartsubstanz ist insbesondere nanokristalliner Hydroxylapatit von Bedeutung. Es handelt sich dabei um biokompatible und bioaktive Kalzium-Phosphatverbindungen, die in der Morphologie und Kristallstruktur eine Ähnlichkeit mit den Hydroxylapatitkristallen des Zahnschmelzes haben und in der Theorie im biomimetischen Sinne zu einer Reparatur von Kariesläsionen beitragen sollen (Enax & Eppele, 2018; Hannig & Hannig, 2010; Vandiver et al., 2005). In einem pH-zyklischen In-vitro-Versuch von Huang et al. (2011), wurde zum Beispiel anhand demineralisierter boviner Schmelzproben festgestellt, dass eine 10%ige nanokristalline Hydroxylapatitsuspension, die zylinderförmige Hydroxylapatitkristalle mit einer Länge von 60-80 nm und einer Breite von 10-20 nm beinhaltete, bei einem pH-Wert von 4,0 einen besseren Remineralisierungseffekt im Bereich der Oberflächenschicht erzielen konnte, als eine Suspension mit mikrokristallinen Hydroxylapatit (0,5-2 µm) und einem pH-Wert von 7,0. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten zudem, dass sich das nanokristalline Hydroxylapatit überwiegend in der äußeren Schicht der Schmelzproben ablagerte und der Läsionskörper unbeeinflusst blieb (Huang et al., 2011). Die daraus resultierende mineralisierte Oberflächenschicht, inhibiert nach Ansicht von Hannig & Hannig eine weitere Diffusion von Mineralionen in tiefere Bereiche der Läsion und beeinträchtigt somit eine Remineralisation des Läsionskörpers (Hannig & Hannig, 2012). Daraus zusammenfassend konnte nanokristallines Hydroxylapatit einen

remineralisierenden Effekt erzielen, wobei die Größe der Kristalle, die chemische Zusammensetzung und Struktur, sowie der pH-Wert des Milieus eine entscheidende Rolle spielten.

In einer weiteren In-vitro-Studie von Tschoppe et al. (2011) wurden künstliche Schmelz- und Dentinläsionen unter remineralisierenden Bedingungen, erzeugt durch eine Calciumphosphat-Lösung, mit Zahnpasten die Nanokristalle aus Hydroxylapatit und Zink-Carbonat-Hydroxylapatit enthielten, behandelt. Als Kontrollgruppe wurde eine Zahnpasta mit Aminfluorid (1450 ppm F<sup>-</sup>) verwendet. Die Proben wurden anschließend mittels transversaler Mikroradiographie ausgewertet. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten, dass die Dentinproben, die mit nanokristallinem Hydroxylapatit bzw. Zink-Carbonat-Hydroxylapatit behandelt wurden im Vergleich zu den Dentinproben, die mit einer aminfluoridhaltigen Zahnpasta behandelt wurden, signifikant höhere Remineralisierungseffekte aufwiesen (Tschoppe et al., 2011). Die pH-zyklische In-vitro-Studie von Esteves-Oliveira et al. (2017) untersuchte ebenfalls an künstlich prädemineralisierten bovinen Schmelzproben den kariespräventiven Effekt einer nanokristallhaltigen Zink-Carbonat-Hydroxylapatit-Zahnpasta. Als Vergleich wurden eine fluoridhaltige (1400 ppm F<sup>-</sup>), zwei fluoridhaltige anti-erosive Zahnpasten und eine fluoridfreie Zahnpasta mit einbezogen. Die Proben wurden insgesamt 14 Tage einem sich zyklisch änderndem pH-Wert ausgesetzt und zweimal täglich für 5 Sekunden maschinell geputzt, sowie für 1 Min. und 5 Sek. der jeweiligen Zahnpastalösung ausgesetzt. Anschließend wurden die Proben mittels transversaler Mikroradiographie ausgewertet. Im Widerspruch zu den Ergebnissen der beiden zuvor erwähnten In-vitro-Studien, wo die Proben ausschließlich in einer remineralisierenden Lösung gelagert wurden, konnte in diesem bakterienfreien pH-zyklischen Studienmodell die Behandlung mit einer nanohydroxylapatithaltigen Zahnpasta an prädemineralisierten Schmelzproben ein Voranschreiten der Demineralisierung nicht verhindern (Esteves-Oliveira et al., 2017b).

Außerdem wurde bisher in einer Doppelblindstudie *in situ* die Re- und Demineralisierungseigenschaften an demineralisierten und gesunden Schmelzproben unter Verwendung einer 5% und 10% enthaltenden Nano-Hydroxylapatit-Zahnpasta und einer 1100 ppm fluoridhaltigen Zahnpasta untersucht (Najibfard et al., 2011). Die Ergebnisse zeigten, dass die Behandlung mit einer Nano-Hydroxylapatit-Zahnpasta die Demineralisierung aufhalten

konnte und zu einer mit der fluoridhaltigen Zahnpasta vergleichbaren Remineralisierung führte. Insgesamt ist die Forschungslage bezüglich der Wirkung von nanokristallinem Hydroxylapatit bzw. Zink-Carbonat-Hydroxylapatit unzureichend, sodass bisher keine eindeutige Aussage über die kariesprotektive Wirkung gefällt werden kann. Unter ausschließlich remineralisierenden Bedingungen konnten bisher remineralisierende Effekte nachgewiesen werden. Bei sich zyklisch veränderten pH-Wert Bedingungen konnte dies nicht beobachtet werden. Insbesondere für Dentin existieren bisher keine pH-zyklischen und keine In-situ-Untersuchungen, die das Re- und Demineralisierungsverhalten unter Verwendung einer Zahnpasta mit nanokristallinen Hydroxylapatit veranschaulichen.

## 2 Aufgabenstellung

In der Zahnmedizin wird zunehmend der Einsatz von nanokristallinem Hydroxylapatit in Mundhygieneartikeln untersucht. Bisher konnte in einigen In-vitro-Studien (Hannig & Hannig, 2012; Huang, et al., 2011; Huang et al., 2009) und einer In-situ-Studie (Najibfard, et al., 2011) die remineralisierende Wirkung dieser fluoridfreien Alternative an kariösen Schmelzläsionen nachgewiesen werden. Für Dentinproben konnte bisher in einer In-vitro-Studie ein remineralisierender Effekt beobachtet werden, wobei diese Beobachtung ausschließlich unter remineralisierenden Bedingungen erfolgte (Tschoppe, et al., 2011).

Die vorliegende randomisierte In-situ-Kreuzstudie sollte dazu dienen die antikariogene Wirkung, sowie die re- und demineralisierenden Effekte einer fluoridfreien, nanohydroxylapatithaltigen Zahnpasta an bovinen Schmelz- und Dentinproben unter klinisch ähnlichen Bedingungen zu untersuchen.

Zum Vergleich sollten drei Zahnpasten mit einer jeweiligen Fluoridkonzentration von 0, 1100 und 5000 ppm F<sup>-</sup> mit einbezogen werden. Die zu untersuchenden Proben wiesen eine gesunde Kontrolloberfläche, eine gesunde Oberfläche und eine künstlich hergestellte Läsion auf. Dabei wurde bei den Dentinproben zwischen einer niedrigen und einer hohen Läsion unterschieden.

Folglich konnte ebenfalls die antikariogene Wirkung in Abhängigkeit zur Fluoridkonzentration und in Korrelation zu der Ausgangssituation der Proben analysiert werden.

### **Hypothesen:**

1. Eine fluoridfreie, nanohydroxylapatithaltige Zahnpasta weist unabhängig von der Zahnhartsubstanz (Schmelz bzw. Dentin) einen signifikanten Unterschied in der Mineralverlustveränderung ( $\Delta\Delta Z$ ) auf, im Vergleich zu einer fluoridfreien Zahnpasta.
2. Gesunde und niedrig demineralisierte Zahnoberflächen weisen unabhängig von der Fluoridkonzentration nach dem In-situ-Versuch eine signifikant größere Mineralverlustveränderung ( $\Delta\Delta Z$ ) auf als hoch demineralisierte Läsionen.
3. Sowohl für kariöses und gesundes Dentin wie auch für Schmelz ist eine Fluorid-Dosis-Wirkungs-Beziehung nachweisbar.

### **3 Materialien und Methoden**

#### **3.1 Probandenstruktur und ethische Aspekte der Studie**

Die vorliegende In-situ-Studie wurde im Zeitraum von November 2017 bis April 2018 an der RWTH Aachen durchgeführt. Die ethische Genehmigung wurde von der örtlichen Ethikkommission (medizinische Fakultät der RWTH Aachen; Nr. EK 200/13) erteilt. Die Studie wurde in das deutsche klinische Studienregister (DRKS-ID: DRKS00011653) eingetragen und entspricht den CONSORT-Richtlinien für kontrollierte randomisierte Studien (von Elm et al., 2014). Es haben insgesamt 20 Probanden teilgenommen, darunter 15 weibliche und 5 männliche Personen. Diese waren zwischen 20 und 56 Jahre alt und lebten zur Zeit der Studie in Aachen, Deutschland. Dementsprechend hatten alle Probanden Zugriff auf das lokale Leitungswasser, welches einen Fluoridgehalt von 0,2mg/l vorweist. Die Probanden wurden größtenteils mit Hilfe eines Aushangs in der Uniklinik Aachen akquiriert und teilweise über direkte Nachfrage. Es wurde mit einer Aufwandsentschädigung in Höhe von 600 Euro und zwei professionellen Zahnreinigungen geworben. Der Sponsor der Studie war die Klinik für Zahnerhaltung, Parodontologie und Präventive Zahnheilkunde, Uniklinik RWTH Aachen. Alle Probanden haben freiwillig teilgenommen und eine Einverständniserklärung unterschrieben. Jeder Proband wurde mit Hilfe einer Patienteninformation durch einen Zahnarzt aufgeklärt. Die Einschlusskriterien beliefen sich auf einen gesunden Allgemeinzustand, ein Alter zwischen 18 und 60 Jahren und ein kariesfreies Gebiss. Vor Beginn der Studie wurde eine Anamnese, ein Zahnstatus und der PSI-Code erhoben. Zudem wurde die Speichelflussrate von  $<0,7\text{ml/min}$  und das Kariesrisiko anhand eines Kariesrisikoabschätzungsbogen (Bratthall & Hansel Petersson, 2005) ermittelt. Die Ausschlusskriterien bezogen sich auf Schwangere, zurzeit stillende Frauen, bekannte Allergien auf die in der Studie verwendeten Produkte und Werkstoffe, die Einnahme von Antibiotika und Personen die gleichzeitig an anderen klinischen Prüfungen oder Forschungsprojekten teilnahmen. Alle Probanden waren frei von aktiven kariösen Läsionen, zeigten keine Anzeichen einer parodontalen Erkrankung und befanden sich in guter allgemeiner gesundheitlicher Verfassung.

### 3.2 Probenherstellung

In dieser In-situ-Kreuzstudie wurden die mittleren und seitlichen permanenten Schneidezähne von frisch geschlachteten Rindern verwendet, welche einen negativen BSE Test (bovine spongiforme Enzephalopathie) vorwiesen. Die Zähne wurden bis zum Gebrauch in 0,08% thymolhaltiger Lösung aufbewahrt. Die Überreste des Parodontium wurden sorgfältig entfernt. Anschließend wurde mittels einer Diamantbandsäge (Exakt 300 CL; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) unter ständiger Wasserkühlung die Wurzel von der Zahnkrone getrennt. Die Zahnkronen wurden zur Herstellung der 250 Schmelzproben verwendet, und die Wurzeln entsprechend für 400 Dentinproben. Aus dem Zahnmaterial wurden weiterhin Probenkörper mit einer Größe von 5 mm x 3,5 mm x 3 mm herausgesägt und bis zur gewünschten Größe an einer Poliermaschine (Schleif- und Poliergerät SAPHIR 360, ATM, Mammelzen, Deutschland) mittels siliziumkarbid Schleifpapieren zurecht poliert (Körnung: 800, 1200; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland). Anschließend wurden die Probenkörper mit Hilfe von Silikonformern in einem kaltpolymerisierenden Kunstharz (Technovit 4071; Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland) eingebettet. Nach dem Einbettvorgang wurde mittels Poliermaschine die Probenoberfläche bei einer Umdrehungszahl von 250 U/min unter ständiger Wasserkühlung vom überschüssigen Kunststoff frei poliert (Körnung: 800, 1200, 2400; Siliziumkarbid-Schleifpapiere; Wirtz-Buehler, Düsseldorf, Deutschland) und eine gleichmäßige planparallele Oberfläche geschaffen. Die in Kunststoff eingebetteten Proben wurden vor dem Demineralisationsvorgang zu zwei Drittel mit einem säureresistenten Nagellack (Double Volume & shine Nail Polish 180; trend IT UP; dm-drogerie Markt, Karlsruhe, Deutschland) bestrichen. Der Nagellack schütze einen Probenanteil vor der Demineralisation, sodass bei späteren Messungen ein Ausgangsreferenzwert vorlag. Ein Drittel der Probenoberflächen blieb ungeschützt (unlackiert), sodass in dem Bereich eine kariesähnliche Läsion mit einer pseudointakten Oberflächenschicht erzeugt werden konnte. Dafür wurden die Schmelzproben für 7 Tage und die Dentinproben für 21 Tage in einem Wärmeschrank (Heratherm IGS400; Thermo Electron LED, Langenselbold, Deutschland) bei einer konstanten Temperatur von 37°C in eine substratspezifisch hergestellte Demineralisationslösung gelagert. Für die genaue Mengenbestimmung der Inhaltsstoffe beider Lösungen diente eine Analysewaage (Sartorius, Goettingen, Deutschland). Der pH-Wert wurde täglich

zur selben Tageszeit mittels eines pH-Meters (pH/Redox-/Temperatur-Messgerät GMH 3530; Greisinger, Regenstauf, Deutschland) und einer pH-Elektrode (pH-Elektrode GE100 BNC; Greisinger, Regenstauf, Deutschland) kontrolliert. Die Schmelzproben wurden einem pH-Wert von 4,95 (Tabelle 1) und die Dentinproben dem Wert pH-Wert von 5,0 (Tabelle 2) ausgesetzt.

*Tabelle 1: Zusammensetzung der Demineralisationslösung für Schmelzproben für einen Ansatz von 5 Litern (Buskes et al., 1985; Wierichs et al., 2017b)*

<b><u>Inhaltsstoffe</u></b>	<b><u>Konzentration</u></b>	<b><u>Menge</u></b>
Kalziumdichlorid-2-hydrat ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ )	3 mmol	2205 mg
Kaliumhydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	3 mmol	2041 mg
Eisessig ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )	50 mmol	15,012 g (14,3ml)
Methyldiphosphonsäure* (MHDP)	6 $\mu\text{mol/l}$	10 ml
Kaliumhydroxid Kalilauge** (KOH) ad pH 4,95	10 mM (56,11g KOH auffüllen auf 100ml VE-Wasser)	20 ml
Vollentsalztes Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ )	-	ad 5000 ml
Thymol ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$ )		in Spuren
*MDP-Stammlösung: 0,0528 g Methyldiphosphonsäure aufgefüllt auf 100ml VE-Wasser		
** KOH 10 mol/l: 56,11 g KOH aufgefüllt auf 100ml VE-Wasser		

*Tabelle 2: Zusammensetzung der Demineralisationslösung für Dentinproben für einen Ansatz von einem Liter (Walther et al., 2018; Wierichs et al., 2018a). Es wurden 300 ml der Lösung für 10 Dentinproben kalkuliert.*

<b><u>Inhaltsstoffe</u></b>	<b><u>Konzentration</u></b>	<b><u>Menge</u></b>
Kalziumdichlorid-2-hydrat ( $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ )	2,2 mM	323,4 mg
Kaliumhydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	2,2 mM	299,4 mg
Eisessig ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ )	50 mM	3,0025 g
Natriumfluorid* (NaF)	0,0476 mM	2 ml
Kalilauge** (KOH) ad pH 5,00	10 mM	0,44ml
Vollentsalztes Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ )		ad 1000ml
Thymol ( $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$ )		in Spuren
* NaF-Stammlösung: 500 mg NaF aufgefüllt auf 500 ml VE-Wasser		
** KOH 10M: 56,11g KOH aufgefüllt auf 100ml VE-Wasser		

Bei Sollwertabweichungen des pH-Wertes wurden die Demineralisationslösungen mit einer 15%igen Salzsäure (HCL 15%ig) oder mit geringen Mengen Kaliumhydroxidlösung (KOH 10M) korrigiert. Nach der Demineralisationsphase wurden die Proben mit destilliertem Wasser abgespült und in 0,08% thymolhaltiger Lösung zwischengelagert.

Nach der In-vitro-Demineralisation wurden die Probenoberflächen der Dentin- und Schmelzproben für die In-situ-Phase in annähernd drei gleich große Bereiche unterteilt. Es wurde eine gesunde geschützte (lackierte) Kontrollfläche (GK) belassen, um mögliche Beschädigungen einer Probe während der In-vitro-Demineralisation und In-situ-Phase zu erfassen. Weiterhin wurde eine gesunde (unlackierte) Fläche (GB) dargestellt, welche innerhalb der In-situ-Phase exponiert wurde, um die Re- und Demineralisationseffekte an gesunden Oberflächen zu analysieren. Dafür wurde der säureresistente Nagellack nach dem In-vitro-Demineralisationsvorgang mit Aceton ( $\text{CH}_3\text{COCH}_3$ ) entfernt. Das letzte Drittel der Proben verfügte über eine demineralisierte Läsion (DB) und wurde in der In-situ-Phase ungeschützt (unlackiert) exponiert, sodass re- und demineralisierende Eigenschaften bei bereits demineralisierten Läsionen untersucht werden konnten.

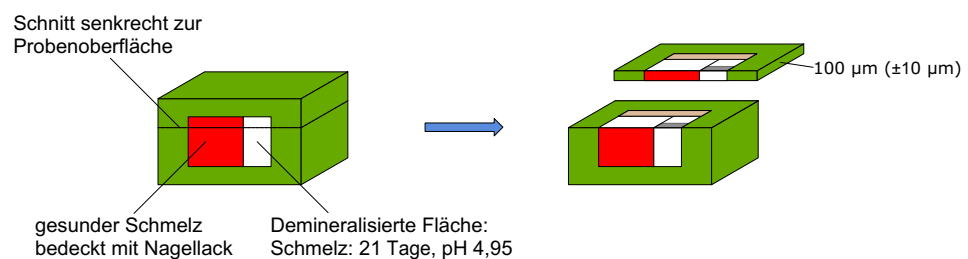
### 3.3 Herstellung der Dünnschliffe

Für die Auswertung mittels Transversaler Mikroradiographie (TMR) war es notwendig, sowohl für die Auswertung der Grundwerte nach der In-vitro-Demineralisation als auch nach der In-situ-Exposition, Dünnschliffe von den Schmelz- und Dentinproben herzustellen. Durch die Analyse der Grundwerte, konnten die Proben gezielt im In-situ-Versuch eingesetzt werden. Dazu wurde die in Kunstharz eingebettete Probe senkrecht zur Schmelz- bzw. Dentinoberfläche zersägt (Trennschleifsystem Exakt 300; Exakt Apparatebau, Norderstedt, Deutschland), sodass der Sägeschnitt durch die geschützte (lackierte) und demineralisierte Fläche verlief und eine kunststofffreie Oberfläche vorlag. Die freiliegende Schnittfläche wurde anschließend mit Schleifpapieren aufsteigender Körnung (2400, 4000) poliert, und mittels Sofortklebstoff (LOCTITE® 493; Henkel, Düsseldorf, Deutschland) auf einen Plexiglas-Objektträger (Plexiglas-Objektträger 25x75x2mm, Walter Messner, Oststeinbek, Deutschland) geklebt. Anschließend wurde der Objektträger, mit der zur Säge

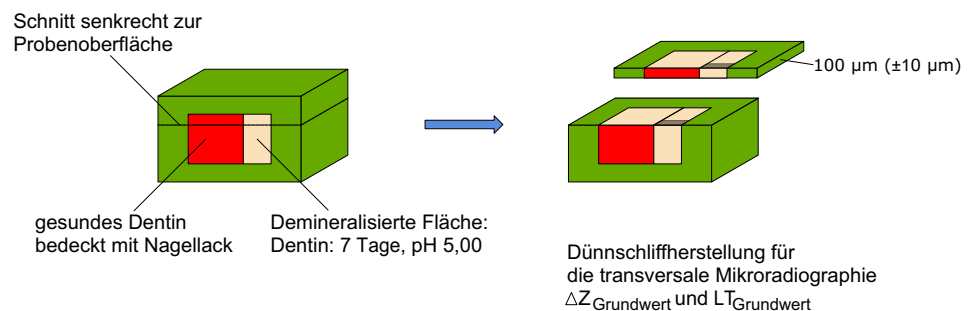


horizontal ausgerichteten Probe, an die Vakuumhalterung der Bandsäge (Bandsäge Exakt 300cl; Exakt Apparatebau) fixiert, sodass unter stetiger Wasserkühlung eine annähernd 300 µm dicke Scheibe der Probe abgesägt werden konnte. Der beim Sägevorgang abgelöste Teil der Probe wurde in 0,08% thymolhaltiger Lösung zwischengelagert und sollte im späteren Verlauf, in die Apparatur eingebaut werden. Der Probenanteil auf dem Objektträger, wurde mit Hilfe einer Mikroschleifapparatur (Mikroschleifsystem 400 CS, Exakt, Norderstedt, Deutschland) auf eine Dicke von 100 µm ( $\pm 10$  µm) planparallelisiert und poliert (Abbildung 2).

#### Schmelz



#### Dentin



□ Schmelz    □ Dentin    ■ Nagellack    ■ Technovit Kunstharz

Abbildung 2: Schematische Darstellung der Dünnschliffherstellung von Schmelz- und Dentinproben

Dafür wurden Schleifpapiere aufsteigender Körnung (1200, 2400, 4000) verwendet. Die Parallelität der Probe wurde mit einem digitalen Mikrometer überprüft (Digimatic Bügelmessschraube; Mitutoyo, Kawasaki, Japan), welches über eine Präzision von 0,001 mm verfügt. Im Anschluss wurden die final polierten Dünnschliffe mit Hilfe eines Skalpell (Feather disposable scalpel; Feather, Osaka, Japan) von den Objektträgern und aus der Kunstharzfassung abgelöst. Mit einem ca. 3 mm breiten Tesafilm®-Streifen wurden diese auf einen Probenhalter zur mikroradiografischen Messung fixiert. Als Probenhalter dienten speziell zugeschnittene Legofliesen (LEGO Fliese 2x2 gelb 3068; LEGO, Bill und

Dänemark). Zwischen allen Arbeitsschritten wurden die bestückten Probenhalter in 0,08 % thymolhaltiger Lösung zwischengelagert.

### **3.4 Untersuchung und Auswertung mittels transversaler Mikroradiographie**

Die mikroradiographischen Aufnahmen der Dentin- und Schmelzproben wurden mit Hilfe einer Röntgenröhre (Röntgenstrahlgenerator PW 1730; Philips, Kassel, Deutschland) erstellt, in der von einer Kupferanode mit Nickelfilterung die Röntgenstrahlen emittiert wurden. Darüber hinaus verfügte die Apparatur über ein spezielles linsenloses Kameragehäuse mit einer Aluminiumeichtreppe, in welche die Probenhalter eingesetzt wurden. Die Röntgenquelle wurde mit 20 kV und 20 mA betrieben. Der Abstand zwischen der Strahlungsquelle und dem Film betrug 28 cm und die Ausrichtung der Probenoberfläche erfolgte parallel zum Film. Die Belichtungszeit des Films betrug 10 Sekunden. Es wurde ein hochauflösender Film (Motion picture fine grain positive film 71337; FUJIFILM Corporation Japan) verwendet, welcher unter standardisierten Bedingungen und nach Herstellerangaben in einer Dunkelkammer entwickelt wurde. Die Digitalisierung und Auswertung der Filme erfolgte mit einem digitalen Bildanalysesystem (Diskus software version 4,80; Königswinter, Deutschland), das mit einem Universalmikroskop (Leica DMRX, Deutschland) und einem angeschlossenen Computer betrieben wurde. Auf dem digitalisierten Bild wurde ebenfalls die Aluminiumeichtreppe abgebildet. Diese verfügte über einen ähnlichen Absorptionskoeffizienten wie die Zahnhartsubstanz, wobei die Dicke und Röntgenabsorption im Gegensatz zur Zahnhartsubstanz konstant blieb. Diese Werte wurden im Computer abgespeichert. Anhand der abgebildeten Grauwerte einer Probe und den Referenzwerten der Aluminiumeichtreppe konnte mit Hilfe einer TMR-Software (Version 5.25 von Joop de Vries, Groningen, Niederlande) der Mineralgehalt (Vol.%) als Funktion der Tiefe ( $\mu\text{m}$ ) berechnet und ein entsprechendes Mikroradiogramm gezeichnet werden (Herkstroter & Ten Bosch, 1990).

Zu Beginn wurde das Programm kalibriert. Als Referenzwert diente zum einen Luft (0 Vol.% Mineralgehalt) und zum anderen der Mineralgehalt von gesundem Schmelz bzw. Dentin. Der Mineralgehalt von gesundem Schmelz liegt bei 87 Vol.% und für gesundes Dentin bei 50 Vol.% (Angmar et al., 1963; Buchalla

et al., 2003; Lippert et al., 2015). Um anschließend den Mineralverlust und die Läsionstiefe errechnen zu können wurden zwei Schwellenwerte eingestellt. Als Startpunkt der Messung wurde für Schmelz und Dentin der Übergang zwischen Luft (0 Vol.% Mineralgehalt) und Zahnhartsubstanz definiert. Dieser Startpunkt kann zwischen 4-20 % variieren, sodass dieser Schwellenwert wie auch in anderen Studien auf eindeutig 20 % festgelegt wurde (Moron et al., 2013; Wierichs et al., 2017a). Das Ende einer Messung und damit der zweite Schwellenwert stellte der Übergang zwischen Läsion und gesundem Schmelz bzw. Dentin dar. Da es eine durchschnittliche Variation von 5 % im Mineralgehalt gesunder Proben gibt, wurde dieser Schwellenwert bei 95 % des Grauwertes für Schmelz (gesund 87 %) bei 82 % bzw. für Dentin (gesund 50 %) bei 45 % festgelegt (Angmar, et al., 1963; Wierichs, et al., 2018a). Die Tiefe einer Läsion (LT) wurde in  $\mu\text{m}$  analysiert und der Mineralgehalt ( $\Delta Z$ ) in Vol.%. Die Messung der künstlich kariösen Läsion erfolgte im Abstand von 400  $\mu\text{m}$  zum Probenrand. Das in einer Probe sichtbare Läsionsknie wurde somit vernachlässigt, da es nicht für die gesamte Probe repräsentativ war. Die erstmalige Bestimmung des Grundmineralverlustes und der Läsionstiefe nach der In-vitro-Demineralisation, ermöglichte es den Ausgangszustand der Schmelz- und Dentinproben zu standardisieren und drei homogene Substratgruppen zu bilden. Es wurde zwischen Schmelzproben mit einer hohen Läsion ( $S_H$ ) bzw. Dentinproben mit einer niedrigen ( $D_N$ ) und einer hohen Läsion ( $D_H$ ) unterschieden.

Nach der In-situ-Phase wurden erneut planparallele Dünnschliffe von den Schmelz- und Dentinproben erstellt und anhand von mikroradiographischen Aufnahmen analysiert. Es wurde sowohl für niedrig als auch für hoch demineralisierte Läsionen die Mineralverlustveränderung ( $\Delta\Delta Z = \Delta Z_{\text{Grundwert}} - \Delta Z_{\text{Effekt}}$ ) und die Läsionstiefe ( $\Delta LT = LT_{\text{Grundwert}} - LT_{\text{Effekt}}$ ) berechnet. Die gesunden exponierten Flächen (GK) der Proben, wurden lediglich nach der In-situ-Phase auf ihre Mineralverlustveränderung  $\Delta\Delta Z$  und die Läsionstiefe  $\Delta LT$  hin analysiert. Damit auch bei den Gesundflächen (GK) ein negativer Wert einer Demineralisation entsprach, wurde bei der Berechnung der Differenz angenommen, dass die Grundwerte bei null lagen. Außerdem wurde eine grafische Auswertung der maximalen und minimalen Mineraldichten aller Proben mit Hilfe eines TMR/WIM Berechnungsprogramms angefertigt (Version 5.25,

Joop de Fries, Groningen, Niederlande). Die Abbildung 3 bietet eine Übersicht über die gesamte Probenverarbeitung während der Studie.

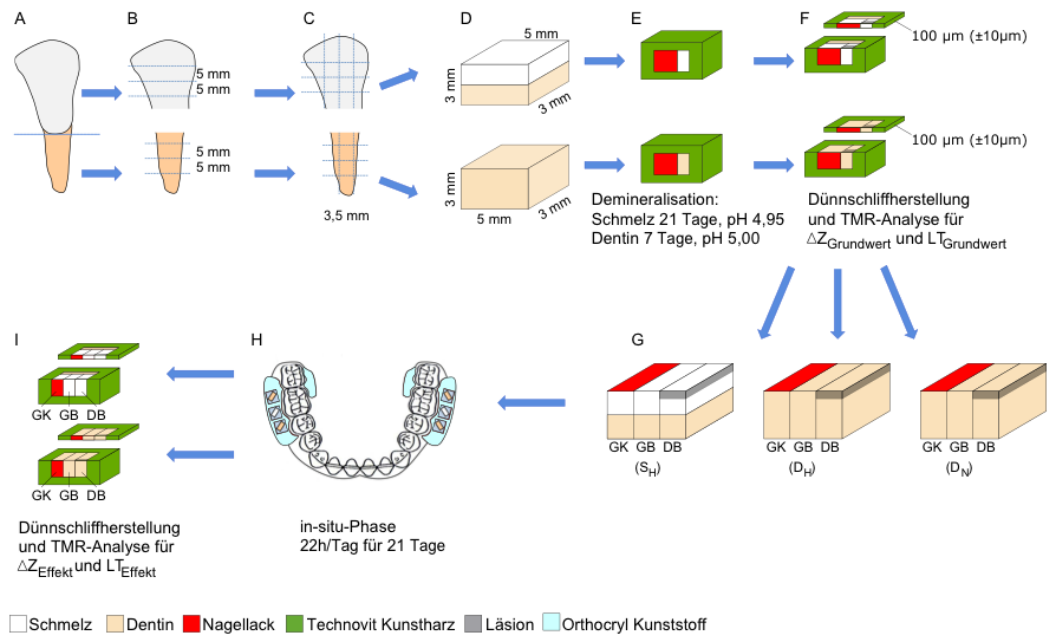


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Proben-Workflows: A) Frontale Ansicht auf einen bovinen Schneidezahn; B) Separation der Zahnkrone und Wurzel; B) und C) Senkrechte Schnitte und parallel zur Längsachse der Zahnkrone; D) Gewonnene Schmelz- und Dentinproben (5 mm x 3,5 mm x 3 mm); E) Die Proben wurden zu zwei Drittel mit einem säureresistenten Nagellack bestrichen und in vitro demineralisiert; F) Herstellung von 100 µm dicken Dünnschliffen für die TMR-Analyse der Grundwerte; G) Die Proben wurden erneut mit Nagellack bestrichen (gesunde Kontrolloberfläche [GK] in rot, gesunde behandelte Oberfläche [GB], demineralisierte behandelte Oberfläche [DB]); H) Schematische Darstellung der Unterkieferapparatur mit zwei eingebauten Schmelzproben und vier Dentinproben. Die Proben wurden 1 mm vertieft in die Kunststoffhalterung inseriert und mit einem PET-Netz verdeckt.; I) Herstellung der 100 µm dicken Dünnschliffe für die TMR-Analyse der Effektwerte.

### 3.5 Randomisierung

Nach der Analyse der probenbezogenen Grundwerte wurde eine computergesteuerte Zufallszuordnungssequenz durch eine Person generiert, die nicht direkt in die Studie involviert war. Diese gab die definierte Position jeder einzelnen Probe in den Apparaturen vor und bestimmte die Reihenfolge der Perioden für jeden Probanden. Zudem kodierte die Person die Zahnpasten mit einer subjektiven Nummer und stellte die Codes in versiegelten Umschlägen bereit, welche nur im Fall eines Notfalls geöffnet werden durften.

### 3.6 Intraorale Apparaturen

Es wurde für jeden Probanden eine individuelle intraorale Apparatur hergestellt. Nach der Kontrolluntersuchung wurde eine Alginatabformung (Alginoplast® Fast Set, Kulzer, Hanau, Deutschland) des Unterkiefers angefertigt und das entsprechende Gipsmodell hergestellt. Mit Hilfe eines dentalen Drahts, der Dicke 1,0 mm (MENZANIUM® Spulendraht, Ø 1,0 mm, federhart, Scheu-Dental, Iserlohn, Deutschland), wurde eine im Unterkiefer verlaufende Apparatur gebogen. Diese verlief vestibulär von den Frontzähnen ausgehend, mit einer mittig gebogenen Aussparung für das Lippenbändchen, beidseits bis zu den Prämolaren. Im Bereich der Prä- und Molarenregion wurde vestibulär eine aus kaltpolymerisierendem durchsichtigem Kunststoff (Orthocryl, Dentaureum, Pforzheim, Deutschland) bestehende Probenhalterung modelliert. Innerhalb dieser Halterung wurde eine ca. 4 mm tiefe Aussparung für insgesamt drei Proben geschaffen. Fortführend wurde der Draht in einem Bogen um die endständigen Molaren gebogen. Die linguale Drahtschleife wurde zur zusätzlichen Retention und zum Schutz der Schleimhaut ebenfalls mit Kunststoff bedeckt (Abbildung 4).

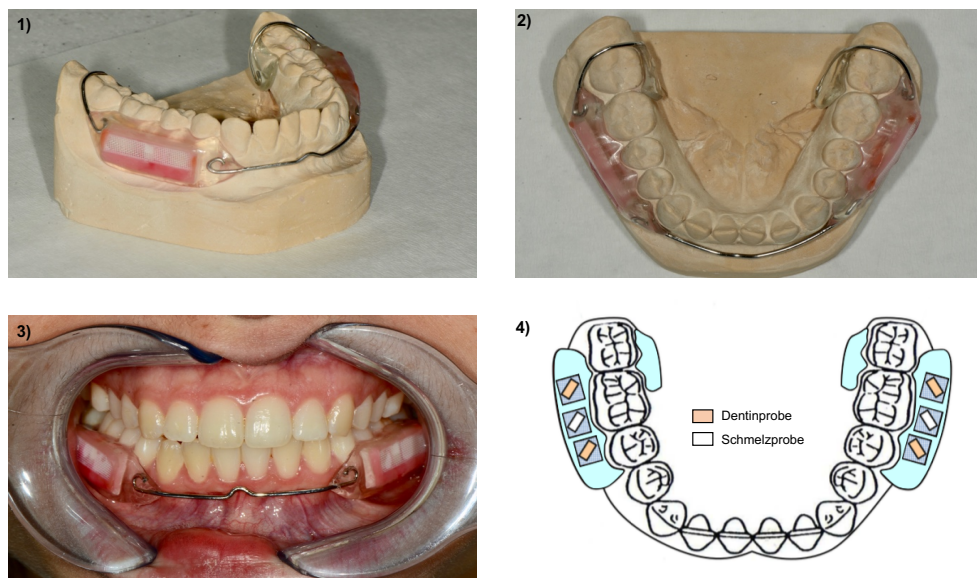


Abbildung 4: 1) Darstellung der Apparatur mit eingebauten Proben und PET-Netzabdeckung auf dem dazugehörigen Gipsmodell; 2) Okklusale Ansicht auf die Apparatur; 3) Intraorale Darstellung einer In-situ-Apparatur mit eingebauten Proben und PET-Netzabdeckung; 4) Schematische Darstellung der angeordneten Schmelz- und Dentinproben in der Apparatur (Modifiziert nach (Wierichs et al., 2020a)).

Die in Kunststoff eingebetteten Proben wurden mit Aceton vom Nagellack befreit und mit Hilfe der Bandsäge (Trennschleifsystem Exakt 300; Exakt Apparatebau,

Norderstedt, Deutschland) ausgebettet. Anschließend wurden die Proben mit Ethylenoxid bei einer Temperatur von 55°C sterilisiert und in die Apparaturen eingebaut. Es wurden pro Phase insgesamt sechs Proben 1 mm vertieft in die Apparatur eingebaut. Beidseits wurde in die Mitte der Probenhalterungen eine Schmelzprobe positioniert, seitlich dieser wurde zum einen eine Dentinprobe mit einer niedrigen und zur anderen eine Dentinprobe mit einer hohen Läsion inseriert. Die Proben wurden mit der demineralisierten Fläche nach kranial hin ausgerichtet und mit einem dentalen Klebewachs (Supradent-Wachs, rot, Opperman-Schwedler, Bonn, Deutschland) fixiert. Der Randbereich zwischen Probenhalterung und Proben wurde mit einem dentalen Modellierwachs (Modellierwachs spezial, Gebdi, Engen, Deutschland) ausgefüllt, sodass nur die Oberfläche exponiert war. Des Weiteren wurden alle sechs Proben im sichtbar gesunden Bereich zu einem Drittel der gesamten Probe mit säureresistentem Nagellack bestrichen. Für eine forcierte Plaqueanlagerung wurden die Proben zusätzlich mit einem Polyethylenterephthalat (PET)-Netz (Perfect Splint®-System; Hager & Werken, Duisburg, Deutschland) bedeckt. Das Netz wurde ebenfalls mit dem dentalen Klebewachs fixiert. Die Apparaturen wurden bis zur Übergabe an den jeweiligen Probanden in einer Frischhaltedose (Clip & Close Frischhaltedose 250 ml, Emsa, Emsdetten, Deutschland) mit vollentsalztem Wasser gefüllt gelagert.

### **3.7 Gruppeneinteilung der verwendeten Substanzen**

Die Gruppeneinteilung und die dafür verwendeten Zahnpasten stehen in der folgenden Tabelle 3. Die einzelnen Zahnpastatuben wurden vor Ausgabe an die Probanden unkenntlich gemacht. Anschließend wurden die Zahnpastatuben vor und nach der In-situ-Phase abgewogen. Die Zuteilung der jeweiligen Zahnpasta erfolgte nach einem randomisierten Schema (siehe Kapitel 8.1), sodass die Probanden in unterschiedlichen Reihenfolgen eine der vier Zahnpasten erhielten. Dadurch sollte ausgeschlossen werden, dass der durchschnittliche Verbrauch einer Zahnpasta, durch die Motivation an der Studienteilnahme beeinflusst wird.

*Tabelle 3: Es wurden vier unterschiedliche Zahnpasten in jeweils vier Gruppen unterteilt und mit einem Buchstaben codiert. Der Fluoridgehalt jeder Zahnpasta ist entsprechend den Herstellerangaben aufgeführt.*

Gruppe	Code	Zahnpasta	Fluoridgehalt	Aktiver Wirkstoff
nanokristallines Zink-Carbonat-Hydroxylapatit (nHA <sub>0</sub> )	A	BioRepair, Dr. Kurt Wolf GmbH & Co KG, Bielefeld, Deutschland	0 ppm F <sup>-</sup>	-
Negativkontrolle (NaF <sub>0</sub> )	D	Lavera Basis Sensitiv Zahncreme, Lavera Nuturkosmetik, Wennigsen, Deutschland	0 ppm F <sup>-</sup>	-
Standardtherapie (NaF <sub>1100</sub> )	C	Crest Cavity Protection, Procter & Gamble, Schwalbach am Taunus, Deutschland	1100 ppm F <sup>-</sup>	NaF
Positivkontrolle (NaF <sub>5000</sub> )	B	Colgate® Duraphat® 5000 ppm Fluorid Zahnpasta, Colgate-Palmolive Ltd, Guildford, England	5000 ppm F <sup>-</sup>	NaF

### 3.8 Fluoridanalyse der verwendeten Substanzen

Mit Hilfe einer spezifischen Fluoridelektrode (Typ 9609 BNWP, Thermo Fisher Scientific, Beverly, USA) und einem verbundenen ionenselektiven Messgerät (Orion Model 920A, Thermo electron corporation, Cambridgeshire, England), konnte die freie Fluoridkonzentration in wässriger Lösung bestimmt werden. Für die Kalibrierung der Fluoridelektrode wurden vier Fluoridlösungen (3,8 mg/l, 1,9 mg/l, 0,38 mg/l und 0,19 mg/l) hergestellt, die im zu erwartenden Konzentrationsbereich der getesteten Zahnpasten lagen. Die Elektrodenpotentiale (mV) der vier Standardlösungen wurden gemessen und gegen ihre Konzentrationen (mg/l) im logarithmischen Maßstab aufgetragen. Anhand dieser Kurve wurde ein Messbereich von -54 bis -60 mV festgelegt, wobei die Nachweisgrenze für F<sup>-</sup> bei 0,19 mg/l lag. Für die Bestimmung des freien Fluoridgehalts wurde von jedem Zahnputzmittel 200 mg abgewogen und in 100 ml vollentsalztem Wasser verdünnt. Anschließend wurden 4 ml jeder Lösung bei 3220 g für 5 Min. zentrifugiert. Für die Messung wurden 500 µl des

Überstandes entnommen und 500 µl TISAB II-Pufferlösung (Thermo Scientific Orion®, Waltham, USA) hinzugefügt (Esteves-Oliveira et al., 2011a). Für jedes Zahnputzmittel wurden zwei Lösungen hergestellt. Diese wurden jeweils dreimal analysiert. Es wurde der prozentuale Anteil an freiem Fluorid in Bezug auf die angegebene Gesamtfluoridkonzentration (Angaben des Herstellers) bestimmt (Meyer-Lueckel, et al., 2015a).

### 3.9 In-situ-Phase

Die 20 Probanden wurden darüber instruiert, die individuell angefertigte Apparatur für insgesamt vier Phasen von je 28 Tagen zu tragen. Zu Beginn jeder Phase erhielten die Probanden eine original verpackte Zahnbürste (Oral-B Indicator; Proctor & Gamble, Schwalbach am Taunus, Deutschland), die Phasen entsprechende Zahnpasta ( $\text{NaF}_0$ ,  $\text{nHA}_0$ ,  $\text{NaF}_{1100}$ ,  $\text{NaF}_{5000}$ ), bei Bedarf fluoridfreies Speisesalz (Jodiertes Speisesalz, Bad Reichenhaller, Heilbronn, Deutschland) für den häuslichen Gebrauch und ein Ernährungs- und Trageprotokoll (siehe Kapitel 8.2). Jede Phase wurde mit einer Einführungsphase begonnen. In dieser sollten die Probanden ausschließlich die ausgeteilten Mundhygieneartikel verwenden und bereits auf fluoridhaltige Nahrung (Fisch oder andere fluoridhaltige Lebensmittel und Präparate) und fluoridhaltige Getränke (schwarzer-, grüner, oder Eis-Tee) verzichten. Im Ernährungsprotokoll sollte der tägliche Konsum von zuckerhaltigen Speisen oder Getränken notiert werden, sowie der eventuelle Gebrauch von fluoridhaltigen Mundhygieneprodukten. Nach 7 Tagen folgte die Behandlungsphase mittels der intraoralen Apparatur. Die Probanden erhielten ihre Apparatur mit den eingebauten Proben, eine Frischhaldedose (Clip & Close Frischhaldedose 250 ml, Emsa, Emsdetten, Deutschland) zum Aufbewahren der Apparatur, eine Stoppuhr (Digital Timer-Count Down Zähler 204359, Sintron, Iffezheim, Deutschland) und 500 ml einer angesetzten sterilen 10%igen Saccharoselösung. Zur Herstellung der Saccharoselösung, wurde das Gemisch aus destilliertem Wasser und handelsüblichen Zucker (Zucker feine Körnung, Diamant Raffinade, Pfeifer und Langen, Köln, Deutschland) durch einen Vakuumfilter gefiltert und anschließend kühl gelagert. Die Probanden wurden über ein vorgegebenes Putzschema instruiert. Es sollte zweimal täglich (morgens und abends) geputzt werden. Dabei wurde die Apparatur aus dem Mund entnommen und ca. 1 g der ausgehändigten Zahnpasta auf die Zahnbürste appliziert. Nach 30 Sekunden Putzen der eigenen



Zähne, wurde das dadurch entstandene Zahnpasta-Speichel-Gemisch links und rechts auf die Netzoberfläche der Probenhalterung aufgetragen. Die Apparatur sollte für 120 Sekunden mit dem applizierten Gemisch extraoral verbleiben. In der Zwischenzeit konnten die Teilnehmer ihre Zähne putzen. Die Proben durften während der gesamten In-situ-Exposition nicht mechanisch gereinigt werden. Nach der Einwirkzeit wurde die Apparatur unter einem leichten und kalten Wasserstrahl abgewaschen und wieder in die Mundhöhle eingesetzt. Die Apparatur sollte nach dem Reinigen für die nächsten 30 Minuten im Mund belassen werden. In dieser Zeit durften keine Getränke oder Nahrungsmittel aufgenommen werden. Es wurde angenommen, dass die Probanden die Apparatur täglich für 22 Stunden intraoral trugen und drei Mahlzeiten einnahmen. Während der drei Mahlzeiten sollte die Apparatur für 40 Minuten in die ausgehändigte Frischhaltedose, befüllt mit 10%iger Saccharoselösung, gelagert werden. Falls die Apparatur darüber hinaus extraoral gelagert werden musste (z.B. bei Ausübung von Kampfsport oder Zwischenmahlzeiten), wurde diese in der Frischhaltebox in Wasser gelagert. Diese zusätzlichen extraoralen Zeiten wurden im Ernährungs- und Trageprotokoll notiert. Am Ende jeder Phase wurde diese Zeit ergänzt. Zudem sollte das Ernährungsprotokoll nach den Kriterien aus der Einführungsphase fortgeführt werden. Der Proband konnte die Saccharoselösung beliebig oft mit der ausgehändigten Reservelösung auswechseln und bekam bei Bedarf neue Saccharoselösung und Zahnpasta. Bei Auftreten von Druckstellen wurden diese nach Terminvereinbarung schnellstmöglich beseitigen. Am Ende jeder Phase wurden die ausgehändigten Utensilien (Apparatur, Zahnbürste, Zahnpastatube, Ernährungs- und Trageprotokoll, Stoppuhr, Saccharoselösung) wieder eingesammelt. Beim Ausbauen der Proben wurde die unter dem (PET)-Netz angesammelte Plaque mit einem sterilen Exkavator entnommen und in jeweils zwei Eppendorf Safe-Lock Tubes (rechts und links angesammelte Plaque) gefüllt, gewogen und bei - 80°C kühl (Jewett Refrigerator Co., Thermofisher scientific) gelagert. Die ausgebauten Schmelz- und Dentinproben wurden für die anschließende mikroradiographische Untersuchung vorbereitet.

### 3.10 Statistische Auswertung

Die Werte der TMR-Analyse wurden mit der SPSS-Software für Windows (SPSS-Software Version 25.0 für Windows; SPSS, München, Deutschland) statistisch ausgewertet. Die Normalverteilung der Daten wurde mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests überprüft. Die Unterschiede des Mineralverlustes ( $\Delta Z_{\text{Grundwert}}$  und  $\Delta Z_{\text{Effekt}}$ ) und der Läsionstiefen ( $LT_{\text{Grundwert}}$  und  $LT_{\text{Effekt}}$ ) wurden vor und nach der In-situ-Exposition für Schmelz ( $S_H$ ) und Dentin ( $D_N$ ,  $D_H$ ) unter Verwendung eines gepaarten t-Tests analysiert. Um bei dem hierbei durchgeführten Crossover-Design, Änderungen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) und der Läsionstiefe ( $\Delta LT$ ), zwischen den unterschiedlichen Behandlungen, auf einer gesunden (GB) und einer zuvor demineralisierten Oberfläche (DB) festzustellen, wurden die Differenzen  $\Delta\Delta Z = \Delta Z_{\text{Grundwert}} - \Delta Z_{\text{Effekt}}$  (Vol. %  $\times \mu\text{m}$ ) und  $\Delta LT = LT_{\text{Grundwert}} - LT_{\text{Effekt}}$  ( $\mu\text{m}$ ) mit einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) statistisch ausgewertet. Das statistische Modell der ANCOVA gilt als eine Erweiterung der ANOVA und vereint die Varianzanalyse und die lineare Regressionsanalyse. Um einen sinngemäßen Vergleich durchzuführen, wurden die Läsionstiefen ( $S_H$  vs.  $D_N$  vs.  $D_H$ ) und die Zahnpasten ( $\text{NaF}_0$  vs.  $\text{nHA}_0$  vs.  $\text{NaF}_{1100}$  vs.  $\text{NaF}_{5000}$ ) als Kovarianzen festgelegt. Die Grundwerte der Proben, der durchgeführte Zeitraum und die ausgewählte Behandlung mittels einer der vier Zahnpasten wurden festgelegt, und der jeweilige Proband, zufällig ausgewählt. Mit Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman wurde zusätzlich die Korrelation zwischen der Fluoridkonzentration ( $F^-$ ) und dem veränderten Mineralverlust ( $\Delta\Delta Z$ ), sowie der veränderten Läsionstiefe ( $\Delta LT$ ), ausgewertet. Hierfür wurden die Gruppen  $\text{NaF}_0$ ,  $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$  verwendet. Des Weiteren wurde damit die Korrelation zwischen dem Ausgangszustand der Dentinproben ( $\Delta Z_{\text{Grundwert}}$  und  $LT_{\text{Grundwert}}$ ) und den Differenzen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) sowie der Läsionstiefen ( $\Delta LT$ ) analysiert. Der Zahnpastaverbrauch wurde mit einer ANOVA ausgewertet. Alle Tests wurden mit einem festgelegten Signifikanzniveau von 5% und demnach mit einem Signifikanzwert von  $p = 0,05$  durchgeführt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der TMR-Analyse

#### 4.1.1 Auswertung der Probengrundwerte nach der In-vitro-Demineralisation

Für den In-situ-Versuch wurden jeweils drei homogene ( $n = 160$ ) Gruppen ( $S_H$ ,  $D_N$ ,  $D_H$ ) zusammengestellt. Innerhalb einer Substratgruppe gab es keinen signifikanten Unterschied im mittleren Mineralverlust  $\Delta Z_{\text{Grundwert}}$  ( $p = 1,000$ ; ANCOVA) und der mittleren Läsionstiefe  $LT_{\text{Grundwert}}$  ( $p \geq 0,841$ ; ANCOVA). Im Vergleich zwischen den drei Substratgruppen, gab es jedoch einen signifikanten Unterschied im mittleren Mineralverlust und der Läsionstiefe. Und zwar zwischen den Dentinproben mit einer niedrig demineralisierten Läsion ( $D_N$ ) und denen mit einer hoch demineralisierten Läsion ( $D_H$ ) ( $p < 0,001$ ; ANCOVA) (Tabelle 4).

*Tabelle 4: Darstellung der drei Substratgruppen für den In-situ-Versuch. Es sind die mittleren Mineralverluste und Läsionstiefen nach der In-vitro-Demineralisation bei einem Konfidenzintervall von 95% aufgelistet. Die hochgestellten Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ( $p < 0,001$ ; ANCOVA).*

<b>Gruppe</b>	<b>Anzahl</b>	<b><math>\Delta Z_{\text{Grundwert}}</math> (Vol.%<math>\times\mu\text{m}</math>)</b>	<b><math>LT_{\text{Grundwert}}</math> (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
hoch demineralisierte Schmelzläsion ( $S_H$ )	160	5072 (4967; 5177) <sup>a</sup>	175 (173; 177) <sup>a</sup>
niedrig demineralisierte Dentinläsion ( $D_N$ )	160	1648 (1591; 1705) <sup>a</sup>	129 (127; 132) <sup>a</sup>
hoch demineralisierte Dentinläsion ( $D_H$ )	160	2894 (2802; 2987) <sup>b</sup>	181 (176; 185) <sup>b</sup>

#### 4.1.2 Auswertung der Effektwerte nach der In-situ-Phase

Alle 20 Probanden haben die Studie vollständig beendet. Während der Auswertung sind 37 Schmelz- und 38 Dentinproben bei der Anfertigung der Dünnschliffe zu Bruch gegangen. Dementsprechend wurden insgesamt 123 (77%) Schmelzproben und 282 (88%) Dentinproben nach der In-situ-Phase ausgewertet. Im Folgenden werden die Ergebnisse der Tabelle 5 beschrieben.

*Tabelle 5: Darstellung der mittleren Mineralverluste ( $\Delta Z$ ) (Konfidenzintervall von 95%) für die drei Substratgruppen  $S_H$ ,  $D_N$ ,  $D_H$  vor und nach der In-situ-Phase. Unterschiedlich hoch gestellte Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen einer Schmelzläsion (Großbuchstaben), einer niedrig demineralisierten Dentinläsion (fette Großbuchstaben) und einer hoch demineralisierten Dentinläsion (Kleinbuchstaben) an ( $p < 0,05$ ; ANCOVA). Fettgedruckte p-Werte zeigen signifikante Unterschiede vor und nach der In-situ-Phase in den Mineralverlusten an ( $p < 0,05$ ; gepaarter t-Test).*

Behandlung	N	$\Delta Z_{\text{Grundwert}}$ [vol% x $\mu\text{m}$ ]		$\Delta Z_{\text{Effekt}}$ [vol% x $\mu\text{m}$ ]		p-Wert*
hoch demineralisierte Schmelzläsion ( $S_H$ )						
nHA <sub>0</sub>	32	5082	(4864;5300) <sup>A</sup>	6944	(5974;7914) <sup>A</sup>	< 0,001
NaF <sub>0</sub>	30	5044	(4829;5260) <sup>A</sup>	6880	(6005;7755) <sup>A</sup>	< 0,001
NaF <sub>1100</sub>	30	5077	(4860;5294) <sup>A</sup>	5214	(4597;5830) <sup>B</sup>	0,587
NaF <sub>5000</sub>	31	5085	(4867;5304) <sup>A</sup>	3831	(3076;4587) <sup>C</sup>	0,012
niedrig demineralisierte Dentinläsion ( $D_N$ )						
nHA <sub>0</sub>	38	1620	(1545;1696) <sup>A</sup>	2611	(1757;3465) <sup>A</sup>	0,023
NaF <sub>0</sub>	38	1666	(1532;1799) <sup>A</sup>	2217	(1589;2844) <sup>A</sup>	0,065
NaF <sub>1100</sub>	31	1618	(1540;1696) <sup>A</sup>	918	(534;1301) <sup>B</sup>	0,002
NaF <sub>5000</sub>	34	1688	(1529;1847) <sup>A</sup>	544	(-100;1188) <sup>B</sup>	< 0,001
hoch demineralisierte Dentinläsion ( $D_H$ )						
nHA <sub>0</sub>	34	2922	(2724;3120) <sup>a</sup>	2918	(2214;3621) <sup>a</sup>	0,972
NaF <sub>0</sub>	37	2831	(2632;3029) <sup>a</sup>	3037	(2365;3708) <sup>a</sup>	0,496
NaF <sub>1100</sub>	35	2885	(2701;3070) <sup>a</sup>	1468	(867;2070) <sup>b</sup>	< 0,001
NaF <sub>5000</sub>	35	2941	(2758;3124) <sup>a</sup>	-176	(-686;334) <sup>c</sup>	< 0,001

Bei Betrachtung der hoch demineralisierten Schmelzproben ( $S_H$ ) wurde ein signifikanter Unterschied in den Behandlungsgruppen nHA<sub>0</sub>, NaF<sub>0</sub> und NaF<sub>5000</sub> zwischen dem mittleren Mineralverlust vor ( $\Delta Z_{\text{Grundwert}}$ ) und nach der In-situ-Phase ( $\Delta Z_{\text{Effekt}}$ ) beobachtet ( $p \leq 0,012$ ; gepaarter t-Test).

In der Gruppe der niedrig demineralisierten Dentinproben wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten des mittleren Mineralverlustes vor und nach der In-situ-Phase in den drei Behandlungsgruppen nHA<sub>0</sub>, NaF<sub>1100</sub> und NaF<sub>5000</sub> festgestellt ( $p \leq 0,023$ ; gepaarter t-Test). Während in den beiden Gruppen NaF<sub>1100</sub> und NaF<sub>5000</sub> Anzeichen einer Remineralisierung zu beobachten waren, gekennzeichnet durch einen signifikant geringeren mittleren Mineralverlust  $\Delta Z_{\text{Effekt}}$  nach der In-situ-Phase als nach der In-vitro-Demineralisation. Die nHA<sub>0</sub>-Gruppe wies hingegen einen signifikant höheren mittleren Mineralverlust  $\Delta Z_{\text{Effekt}}$  nach der In-situ-Exposition auf als nach der In-vitro-Demineralisation.

Bei den Dentinproben mit einer hoch demineralisierten Läsion wurde im mittleren Mineralverlust ein signifikanter Unterschied in der NaF<sub>1100</sub>- und NaF<sub>5000</sub>-Gruppe nachgewiesen ( $p < 0,001$ ; gepaarter t-Test). In beiden Gruppen wurde ein signifikant geringerer mittlerer Mineralverlust  $\Delta Z_{\text{Effekt}}$  festgestellt als nach der In-vitro-Demineralisation, wobei der mittlere Effektwert der NaF<sub>5000</sub>-Gruppe sogar im negativen Bereich war.

Der Vergleich des mittleren Mineralverlustes ( $\Delta Z_{\text{Effekt}}$ ) zwischen den vier Behandlungsgruppen innerhalb einer Substratgruppe erwies signifikante Unterschiede in der  $S_H$ -Gruppe zwischen  $\text{NaF}_0$ ,  $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$  ( $p \leq 0,005$ ; ANCOVA). Die Proben der  $D_N$ -Gruppe zeigten signifikante Unterschiede in den Effektwerten zwischen der Behandlung mit  $\text{nHA}_0$  und den beiden fluoridhaltigen Zahnpasten  $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$  ( $p < 0,001$ ; ANCOVA). Ebenso lagen signifikante Unterschiede zwischen der  $\text{NaF}_0$  und den Zahnpasten  $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$  vor ( $p \leq 0,007$ ; ANCOVA). Die hoch demineralisierten Dentinproben wiesen außerdem einen signifikanten Unterschied zwischen den Behandlungen  $\text{NaF}_0$ ,  $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$  auf ( $p < 0,001$ ; ANCOVA). Des Weiteren konnte in beiden Dentinegruppen ( $D_N$  und  $D_H$ ) kein signifikanter Unterschied zwischen der  $\text{nHA}_0$  Behandlung und der  $\text{NaF}_0$  Behandlung festgestellt werden ( $p \leq 0,784$ ; ANCOVA). Nachstehend werden die in der Tabelle 6 dargestellten Effektwerte der Läsionstiefen erläutert.

*Tabelle 6: Darstellung der mittleren Läsionstiefen (LT) (Konfidenzintervall von 95%) für die drei Substratgruppen  $S_H$ ,  $D_N$ ,  $D_H$  vor und nach der In-situ-Phase. Unterschiedlich hoch gestellte Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede zwischen einer Schmelzläsion (Großbuchstaben), einer niedrig demineralisierten Dentinläsion (fette Großbuchstaben) und einer hoch demineralisierten Dentinläsion (Kleinbuchstaben) an ( $p < 0,05$ ; ANCOVA). Fettgedruckte p-Werte zeigen signifikante Unterschiede vor und nach der In-situ-Phase in den Läsionstiefen an ( $p < 0,05$ ; gepaarter t-Test).*

Behandlung	N	LT <sub>Grundwert</sub> [ $\mu\text{m}$ ]	LT <sub>Effekt</sub> [ $\mu\text{m}$ ]	p-Wert*
<b>hoch demineralisierte Schmelzläsion (<math>S_H</math>)</b>				
$\text{nHA}_0$	32	173 (170;176) <sup>A</sup>	196 (181;212) <sup>A</sup>	<b>0,005</b>
$\text{NaF}_0$	30	174 (168;180) <sup>A</sup>	202 (181;222) <sup>A</sup>	<b>0,004</b>
$\text{NaF}_{1100}$	30	175 (170;179) <sup>A</sup>	202 (188;216) <sup>A</sup>	<b>&lt; 0,001</b>
$\text{NaF}_{5000}$	31	178 (174;182) <sup>A</sup>	151 (129;172) <sup>B</sup>	<b>0,026</b>
<b>niedrig demineralisierte Dentinläsion (<math>D_N</math>)</b>				
$\text{nHA}_0$	38	131 (127;135) <sup>A</sup>	172 (137;207) <sup>A</sup>	<b>0,028</b>
$\text{NaF}_0$	38	126 (122;131) <sup>A</sup>	150 (123;178) <sup>A</sup>	0,093
$\text{NaF}_{1100}$	31	129 (124;134) <sup>A</sup>	145 (128;161) <sup>A</sup>	<b>0,041</b>
$\text{NaF}_{5000}$	34	132 (124;139) <sup>A</sup>	144 (108;180) <sup>A</sup>	0,459
<b>hoch demineralisierte Dentinläsion (<math>D_H</math>)</b>				
$\text{nHA}_0$	34	182 (173;192) <sup>a</sup>	178 (151;205) <sup>a</sup>	0,568
$\text{NaF}_0$	37	178 (169;186) <sup>a</sup>	172 (147;196) <sup>a</sup>	0,756
$\text{NaF}_{1100}$	35	180 (170;189) <sup>a</sup>	173 (147;199) <sup>a</sup>	0,368
$\text{NaF}_{5000}$	35	183 (173;193) <sup>a</sup>	151 (115;187) <sup>a</sup>	0,081

Die Effektwerte ( $LT_{\text{Effekt}}$ ) der hoch demineralisierten Schmelzproben zeigten in allen vier Behandlungsgruppen einen signifikanten Unterschied ( $p \leq 0,026$ ; gepaarter t-Test) im Vergleich zu den Grundwerten  $LT_{\text{Grundwert}}$ . In der  $\text{NaF}_{5000}$ -Gruppe wurde verglichen mit den drei anderen Behandlungsgruppen eine Läsionstiefenreduktion beobachtet ( $p \leq 0,17$ ; ANCOVA), welche sich durch einen geringeren  $LT_{\text{Effekt}}$  Wert im Vergleich zum  $LT_{\text{Grundwert}}$  darstellte.

In der Gruppe der niedrig demineralisierten Dentinproben wurde zwischen den Grundwerten und den Effektwerten ein signifikanter Unterschied in den Gruppen  $\text{nHA}_0$  und  $\text{NaF}_{1100}$  beobachtet ( $p \leq 0,041$ ; gepaarter t-Test). In beiden Behandlungsgruppen stellte sich der Effektwert größer als der Grundwert dar, was auf eine Zunahme der Läsionstiefe hindeutete.

In der Gruppe der hoch demineralisierten Dentinläsionen konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Grundwerten  $LT_{\text{Grundwert}}$  und den Effektwerten  $LT_{\text{Effekt}}$  festgestellt werden ( $p \geq 0,081$ ; gepaarter t-Test).

#### **4.1.3 Auswertung der Differenzen des Mineralverlustes und der Läsionstiefen**

Im Hinblick auf die Fragestellung, ob die Grundwertläsion einen Einfluss auf den Läsionseffekt in der jeweiligen Behandlungsgruppe hat, wurden die Differenzen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) und der Läsionstiefe ( $\Delta LT$ ) aus den Werten vor und nach der In-situ-Phase mittels einer ANCOVA ausgewertet. Sie sind in der folgenden Abbildung 5 dargestellt.

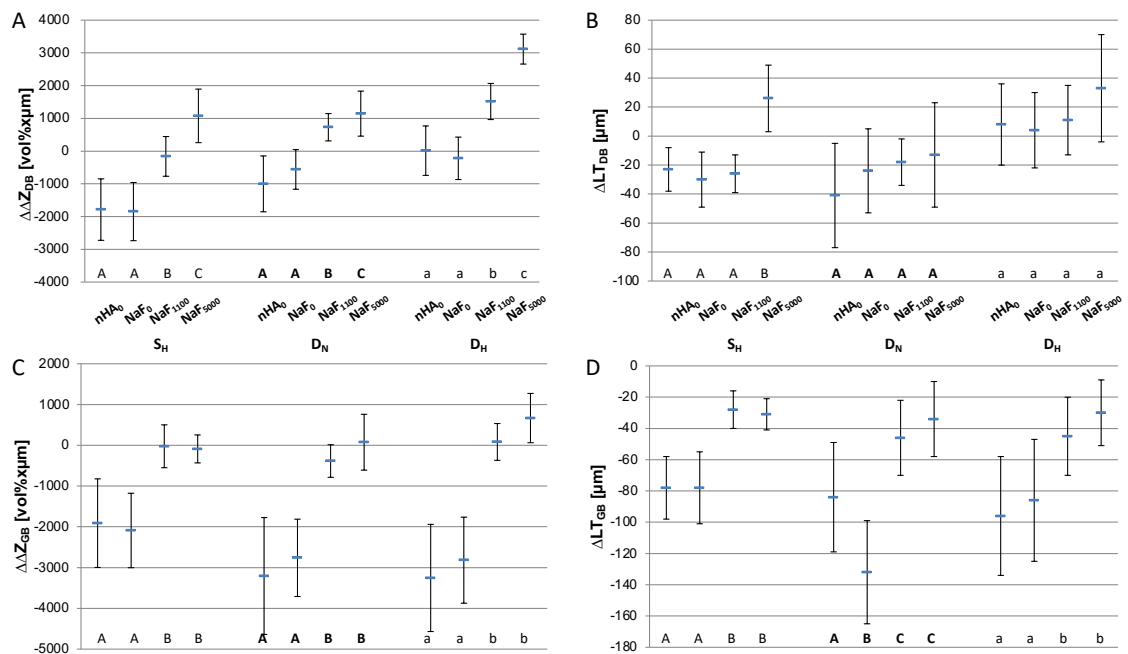


Abbildung 5: Darstellung der mittleren Werte der Mineralverlustveränderungen ( $\Delta\Delta Z$ ) und der Läsionstiefen  $\Delta LT$  (Konfidenzintervall von 95%) aller drei Substratgruppen. In A und B sind die Werte der demineralisierten Oberflächen dargestellt ( $\Delta\Delta Z_{DB}/\Delta LT_{DB}$ ). In C und D sind die Werte der gesunden Oberflächen ( $\Delta\Delta Z_{GB}/\Delta LT_{GB}$ ) dargestellt. Unterschiedlich untergestellte Buchstaben weisen auf signifikante Unterschiede zwischen den Behandlungen innerhalb der Schmelzproben (Großbuchstaben), sowie mit den niedrig (fette Großbuchstaben) und den hoch demineralisierten Dentinproben (kleine Großbuchstaben) hin ( $p < 0,05$ ; ANCOVA).

Zunächst werden die Ergebnisse der demineralisierten Flächen ( $\Delta\Delta Z_{DB}$ ) betrachtet. Dabei wurde ein signifikanter Unterschied innerhalb der Substratgruppen  $S_H$  ( $p \leq 0,012$ ; ANCOVA),  $D_N$  ( $p \leq 0,011$ ; ANCOVA) und  $D_H$  ( $p \leq 0,001$ ; ANCOVA) zwischen den Behandlungsgruppen  $NaF_0$ ,  $NaF_{1100}$  und  $NaF_{5000}$  beobachtet. Bei den  $S_H$ -Proben konnte außerdem eine signifikante Läsionstiefenreduktion ( $\Delta LT_{DB}$ ) in der  $NaF_{5000}$ -Gruppe im Vergleich zu den drei anderen Behandlungsgruppen ( $nHA_0$ ,  $NaF_0$ ,  $NaF_{1100}$ ) festgestellt werden ( $p \leq 0,047$ ; ANCOVA). Die Darstellung der Mittelwerte zeigte zudem, dass die Behandlung mit der Positivkontrolle ( $NaF_{5000}$ ) in Bezug auf die Mineralverlustveränderung in der  $D_H$ -Gruppe einen signifikant größeren Anstieg des Mineralgehaltes (3117 Vol.% $\times\mu m$ ) erzielte als in der  $D_N$ -Gruppe (1146 Vol.% $\times\mu m$ ) ( $p = 0,003$ ; ANCOVA).

Der Vollständigkeit halber wurden ebenfalls die Differenzen  $\Delta\Delta Z_{GB}$  und  $\Delta LT_{GB}$  der gesunden Oberflächen berechnet. Dafür wurden die Werte nach der In-situ-Phase gemessen und der Grundwert als Null angenommen. Innerhalb der drei Substratgruppen zeigte sich in der Mineralverlustveränderung  $\Delta\Delta Z_{GB}$  ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden fluoridfreien ( $nHA_0$  und  $NaF_0$ ) und

den beiden fluoridhaltigen Behandlungsgruppen ( $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$ ) ( $S_H$ :  $p \leq 0,005$ ; ANCOVA;  $D_N$ :  $p < 0,001$ ; ANCOVA und  $D_H$ :  $p < 0,001$ ; ANCOVA). Die gesunde Oberfläche der  $D_H$ -Gruppe, welche mit der Positivkontrolle  $\text{NaF}_{5000}$  behandelt wurde, wies in der Mineralverlustveränderung  $\Delta\Delta Z_{GB}$  einen größeren Anstieg des Mineralgehaltes ( $668 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ ) auf als die Proben der  $D_N$ -Gruppe ( $77 \text{ Vol.}\% \times \mu\text{m}$ ). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ( $p = 0,355$ ; ANCOVA).

Die Ergebnisse der veränderten Läsionstiefen  $\Delta L T_{GB}$  zeigten ebenfalls innerhalb der Substratgruppen  $S_H$  und  $D_H$  einen signifikanten Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen  $nHA_0$ ,  $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$  ( $S_H$ :  $p \leq 0,015$ ; ANCOVA und  $D_H$ :  $p \leq 0,008$ ; ANCOVA), sowie zwischen  $\text{NaF}_0$ ,  $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$  ( $S_H$ :  $p \leq 0,017$ ; ANCOVA und  $D_H$ :  $p \leq 0,031$ ; ANCOVA) auf.

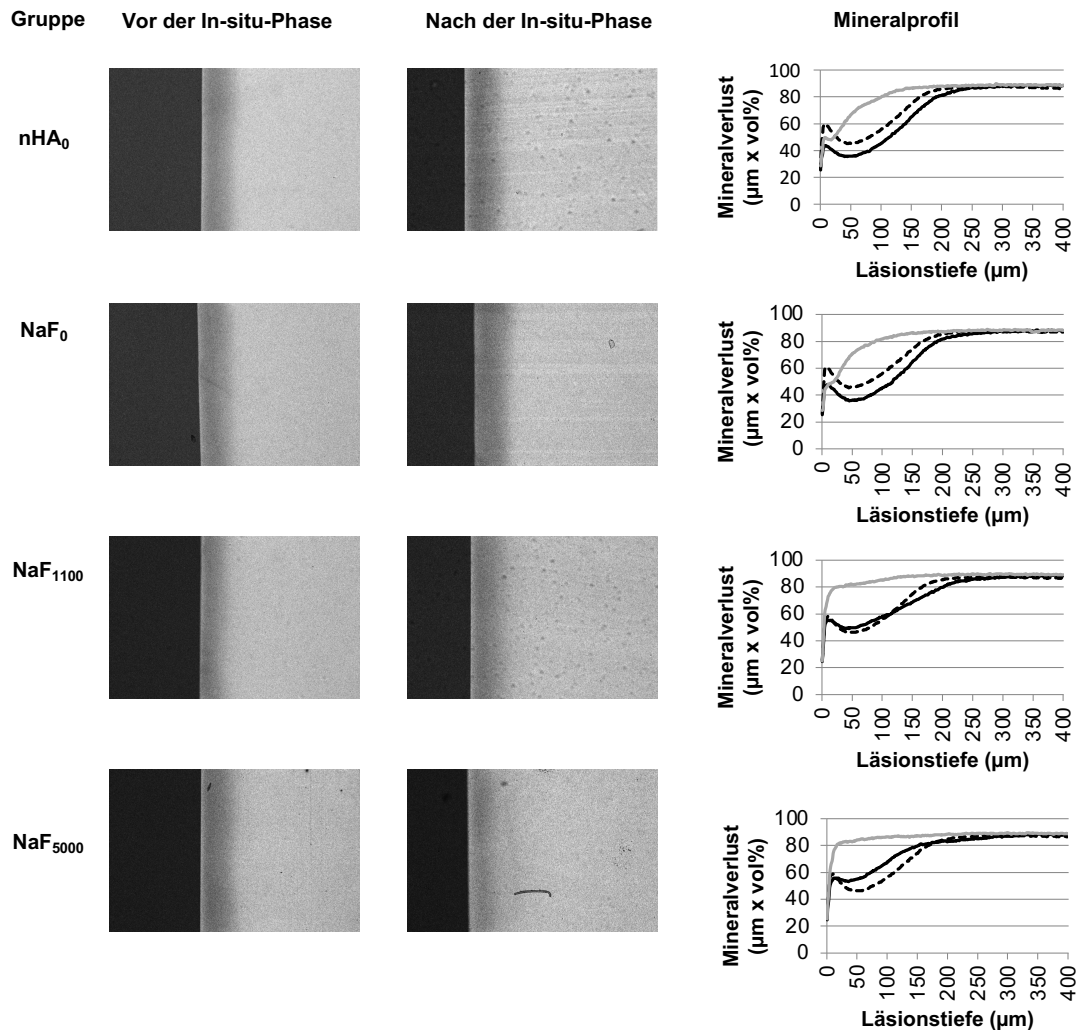
Ausschließlich in der  $D_N$ -Gruppe gab es einen signifikanten Unterschied zwischen der Negativkontrolle  $\text{NaF}_0$  und der  $nHA_0$  Behandlung ( $p \leq 0,009$ ; ANCOVA). Unabhängig von der Zahnhartsubstanz (Schmelz bzw. Dentin) wurde jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen  $nHA_0$  und  $\text{NaF}_0$  in Bezug auf die Mineralverlustveränderung der demineralisierten  $\Delta\Delta Z_{DB}$  ( $p \geq 0,333$ ; ANCOVA) und der gesunden Flächen  $\Delta\Delta Z_{GB}$  ( $p \geq 0,462$ ; ANCOVA) beobachtet.



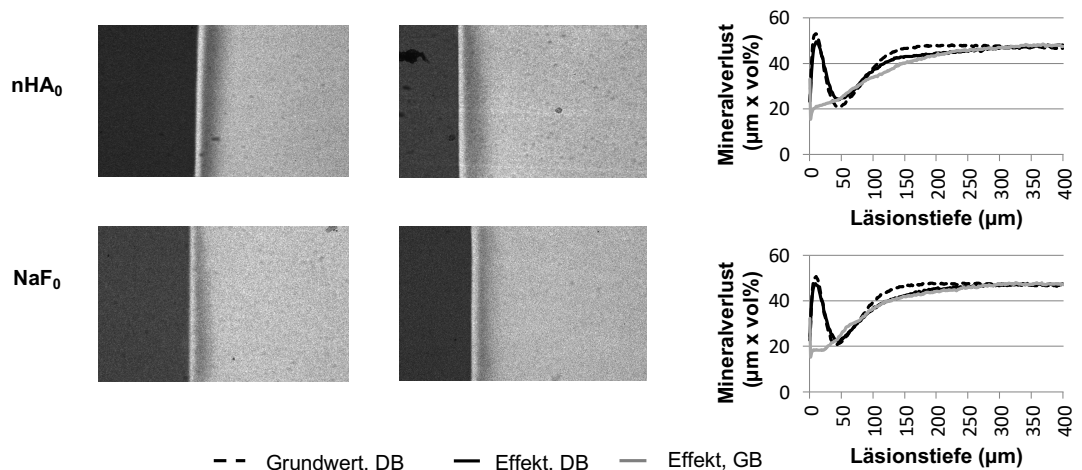
## 4.2 Mineralprofile

Anhand der TMR-Aufnahmen konnte eine grafische Auswertung der maximalen und minimalen Mineraldichten aller Proben angefertigt werden. In der folgenden Abbildung 6 sind die gemittelten Mineralprofile aller Behandlungsgruppen ( $nHA_0$ ,  $NaF_0$ ,  $NaF_{1100}$ ,  $NaF_{5000}$ ) und repräsentative TMR-Aufnahmen dargestellt.

### hoch demineralisierte Schmelzproben ( $S_H$ )



### niedrig demineralisierte Dentinproben ( $D_N$ )



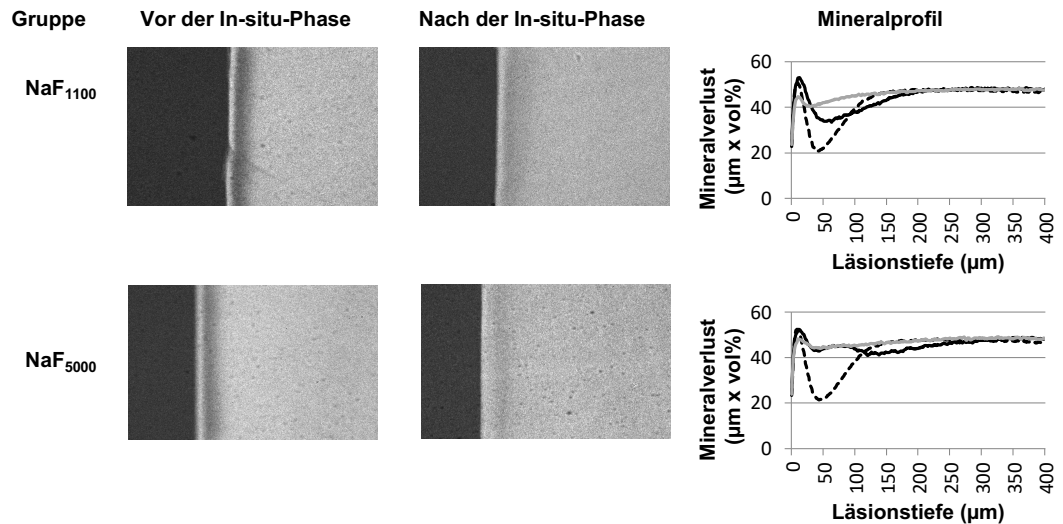
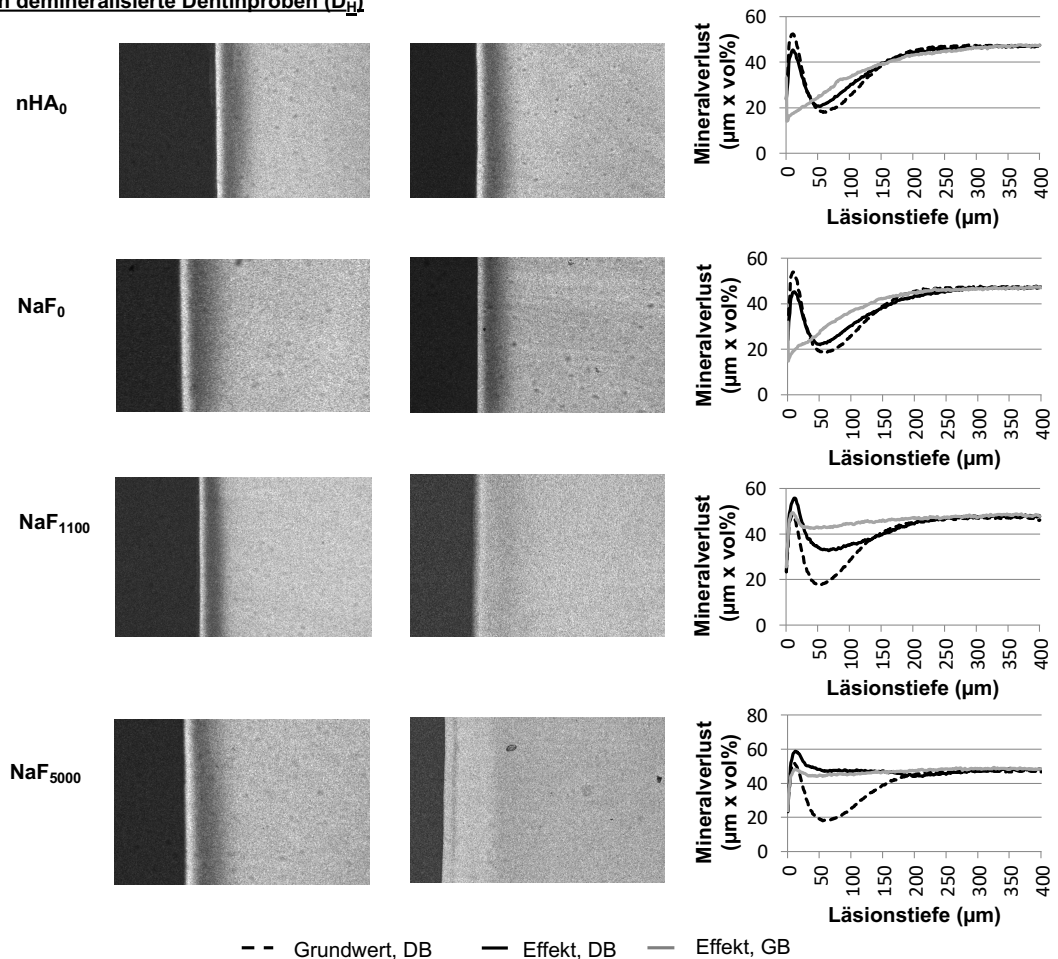
niedrig demineralisierte Dentinproben ( $D_N$ )hoch demineralisierte Dentinproben ( $D_H$ )

Abbildung 6: Dargestellt sind für die Behandlungsgruppen nHA<sub>0</sub>, NaF<sub>0</sub>, NaF<sub>1100</sub> und NaF<sub>5000</sub> die mittleren Mineralprofile und entsprechende repräsentative TMR-Aufnahmen der *in vitro* hergestellten Läsionen, vor und nach der In-situ-Phase, der jeweiligen Substratgruppen  $S_H$ ,  $D_N$  und  $D_H$ . In den mittleren Mineralprofilen sind die Funktionen der Grundwerte (Grundwert, DB) nach der In-vitro-Demineralisation, sowie die der demineralisierten (Effekt, DB) und gesunden Flächen (Effekt, GB) nach der In-situ-Phase dargestellt.

In den Mineralprofilen sind die Funktionen der Grundwertproben nach der In-vitro-Demineralisation durch die *schwarz gestrichelte* Funktion dargestellt (Grundwert). Die Funktionen der Effektproben nach der In-situ-Exposition sind in den Mineralprofilen für die demineralisierten Flächen (Effekt, DB) in *schwarz* dargestellt und die der gesunden Flächen (Effekt, GB) in *hellgrau*. Nach der In-vitro-Demineralisation konnte bei allen Proben eine demineralisierte Läsion unter Ausbildung einer pseudointakten Oberfläche beobachtet werden. In den Mineralprofilen stellte sich die pseudointakte Oberfläche als regionales Maximum in der Funktion dar und eine Demineralisation am folgenden Abfallen der Funktion. Es wurde bei den Proben vor der In-situ-Phase kein zusätzlicher abrasiver Oberflächenverlust festgestellt. Nach der Behandlung mit der Positivkontrolle  $\text{NaF}_{5000}$ , konnte bei den Dentinproben im Bereich der demineralisierten Fläche eine weitere demineralisierte Schicht beobachtet werden. Dies zeichnete sich in der Abbildung 6 durch ein zweites regionales Maximum mit einem darauffolgenden Abfall in der Effektfunktion (Effekt, DB) ab. Zudem wurde beobachtet, dass die Effektfunktionen (Effekt, DB) der hoch demineralisierten Dentinproben sowohl nach der Behandlung mit der Standardtherapie  $\text{NaF}_{1100}$  als auch mit der Positivkontrolle  $\text{NaF}_{5000}$  ein höheres regionales Maximum aufwiesen, als die Grundwertfunktionen. In den Mineralprofilen der Schmelzoberflächen konnte in den Behandlungsgruppen  $\text{nHA}_0$  und  $\text{NaF}_0$ , verglichen mit den beiden Gruppen  $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$ , ein langsamerer Anstieg der Effektfunktion (Effekt, GB) beobachtet werden. Bei den Dentinproben stiegen die Effektfunktionen der gesunden Oberflächen (Effekt, GB) in den beiden Behandlungsgruppen  $\text{nHA}_0$  und  $\text{NaF}_0$  langsamer an als die Funktionen der Grundwertproben. Dieser Verlauf kennzeichnete eine stärkere Demineralisation bei den Grundwertproben als bei den Effektproben (Effekt, GB). In den Funktionen der Grundwertproben wurde hingegen ebenfalls ein anfängliches regionales Maximum der Funktion beobachtet. Daraus ließ sich schließen, dass die Demineralisation der gesunden Oberflächen während der In-situ-Phase ohne Ausbildung einer mineralisierten Oberflächenschicht erfolgte.

### 4.3 Auswertung des Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten

#### 4.3.1 Die Korrelation zwischen Fluoridkonzentration und Mineralverlust ( $\Delta\Delta Z$ )

Für die Schmelzproben ( $S_H$ ) ergab die Berechnung des Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten eine signifikante und mäßige Korrelation zwischen den steigenden  $F^-$ -Konzentrationen (0, 1100, 5000 ppm  $F^-$ ) und den Differenzen des Mineralverlustes der gesunden ( $\Delta\Delta Z_{GB}$ ) und demineralisierten Flächen ( $\Delta\Delta Z_{DB}$ ) ( $p < 0,001$ ). Die Dentinproben mit einer niedrig demineralisierten Läsion ( $D_N$ ) zeigten ebenfalls zwischen den  $F^-$ -Konzentrationen und den Differenzen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z_{DB}/\Delta\Delta Z_{GB}$ ) eine signifikante und mäßige Korrelation ( $p < 0,001$ ). Für die Dentinproben mit einer hoch demineralisierten Läsion ( $D_H$ ), konnte eine signifikante und starke Korrelation zwischen den Differenzen der demineralisierten Flächen ( $\Delta\Delta Z_{DB}$ ), sowie die der gesunden Flächen ( $\Delta\Delta Z_{GB}$ ) und den steigenden  $F^-$  Konzentrationen beobachtet werden ( $p < 0,001$ ) (Tabelle 7).

*Tabelle 7: Darstellung der Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten für die Korrelation zwischen den  $F^-$ -Konzentrationen und den Differenzen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) der drei Substratgruppen  $S_H$ ,  $D_N$  und  $D_H$ . Es wurde jeweils die Differenz der demineralisierten ( $\Delta\Delta Z_{DB}$ ) und die der gesund behandelten Oberfläche ( $\Delta\Delta Z_{GB}$ ) in Korrelation gesetzt. Fett geschriebene p-Werte stehen für einen signifikanten Unterschied.*

F <sup>-</sup> -Konzentration in ppm	Substrat-gruppe	Koeffizient für $\Delta\Delta Z_{DB}$	p-Wert	Koeffizient für $\Delta\Delta Z_{GB}$	p-Wert
0,1100, 5000	$S_H$	$r_{DB}=0,497$	<b>p &lt; 0,001</b>	$r_{GB}=0,463$	<b>p &lt; 0,001</b>
0,1100, 5000	$D_N$	$r_{DB}=0,575$	<b>p &lt; 0,001</b>	$r_{GB}=0,598$	<b>p &lt; 0,001</b>
0,1100, 5000	$D_H$	$r_{DB}=0,700$	<b>p &lt; 0,001</b>	$r_{GB}=0,611$	<b>p &lt; 0,001</b>

### 4.3.2 Korrelation zwischen Grundwert und $\Delta\Delta Z$ bzw. $\Delta LT$ von Dentin

Die Korrelationen zwischen den Grundwerten ( $\Delta Z_{\text{Grundwert}}$  und  $LT_{\text{Grundwert}}$ ) und den Differenzen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) bzw. der Läsionstiefen ( $\Delta LT$ ) der Dentinproben war signifikant (Tabelle 8). Es konnte für alle Behandlungsgruppen eine mäßige Korrelation zwischen dem Ausgangszustand der Dentinproben und den Differenzen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ), sowie der veränderten Läsionstiefen ( $\Delta LT$ ) beobachtet werden. In der Behandlungsgruppe  $\text{NaF}_{5000}$  erwies sich in Bezug auf den Mineralverlust eine starke Korrelation zwischen  $\Delta Z_{\text{Grundwert}}$  und  $\Delta\Delta Z$ . Wohingegen für die Läsionstiefe nur eine schwache Korrelation festgestellt wurde. Es konnte beobachtet werden, dass unter demineralisierenden Bedingungen ( $\text{nHA}_0$  und  $\text{NaF}_0$ ) die gesunden Zahnoberflächen die höchste Demineralisierung aufzeigten und die hoch demineralisierten Zahnoberflächen die niedrigste. Unter remineralisierenden Bedingungen ( $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$ ) wurde bei den hoch demineralisierten Zahnoberflächen die höchste Remineralisierung beobachtet und bei den gesunden Oberflächen hingegen die niedrigste.

*Tabelle 8: Die Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten und p-Werte ( $p < 0,05$ ) für die Relation zwischen den Grundwerten der Dentinproben im Mineralverlust ( $\Delta Z_{\text{Grundwert}}$ ) und der Läsionstiefe ( $LT_{\text{Grundwert}}$ ), sowie den Differenzen des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) und der veränderten Läsionstiefen ( $\Delta LT$ ). Die Dentinproben wurden separat in der jeweiligen Behandlungsgruppe betrachtet. Fettgeschriebene p-Werte zeigen einen signifikanten Unterschied an.*

Behandlung	$\Delta Z_{\text{Grundwert}} \leftrightarrow \Delta\Delta Z$		$LT_{\text{Grundwert}} \leftrightarrow \Delta LT$	
	r-Wert	p-Wert	r-Wert	p-Wert
$\text{nHA}_0$	0,447	<b>&lt; 0,001</b>	0,534	<b>&lt; 0,001</b>
$\text{NaF}_0$	0,473	<b>&lt; 0,001</b>	0,597	<b>&lt; 0,001</b>
$\text{NaF}_{1100}$	0,499	<b>&lt; 0,001</b>	0,402	<b>0,033</b>
$\text{NaF}_{5000}$	0,678	<b>&lt; 0,001</b>	0,188	<b>&lt; 0,001</b>

#### 4.4 Auswertung des Zahnpastaverbrauchs und des freien Fluoridgehalts

Nach dem In-situ-Versuch konnte kein signifikant unterschiedlicher Verbrauch der vier Zahnpasten festgestellt werden, außer bei dem Vergleich zwischen der Standardtherapie NaF<sub>1100</sub> und der Positivkontrolle NaF<sub>5000</sub> ( $p < 0,05$ ; ANOVA, Tabelle 9). Der Gehalt an freiem Fluorid und der Prozentsatz in Relation zu dem vom Hersteller angegebenen Fluoridgehalt sind in Tabelle 9 aufgelistet. In den verwendeten fluoridfreien Zahnpasten (nHA<sub>0</sub> und NaF<sub>0</sub>) wurde eine vernachlässigbare Menge an freiem Fluorid gemessen.

*Tabelle 9: Darstellung der Fluoridangaben des Herstellers, die gemessenen Werte des freien Fluoridgehalts mit der in Klammern stehenden Standardabweichung, der pH-Wert der Zahnpasten und der mittlere Zahnpastaverbrauch. Für den mittleren Zahnpastaverbrauch sind jeweils die Mittelwerte bei einem Konfidenzintervall von 95% abzulesen. Die hochgestellten Buchstaben stehen für einen signifikanten Unterschied zwischen den Zahnpasten ( $p < 0,05$ ; ANOVA).*

	nHA <sub>0</sub>	NaF <sub>0</sub>	NaF <sub>1100</sub>	NaF <sub>5000</sub>
Fluoridkonzentration (ppm F <sup>-</sup> ) gemäß Herstellerangaben	0	0	1100	5000
Freie Fluoridkonzentration (ppm F <sup>-</sup> ) nach den vorliegenden Messungen (Standardabweichung)	1 (1)	0 (0)	1254 (147)	5408 (70)
pH-Wert gemäß Herstellerangaben	7,0-7,1	7,0-7,5	6,0-9,0	k.A.
pH-Wert der gemessenen Zahnpasta-Lösung	8,2	9,2	7,3	8,7
Mittlerer Zahnpastaverbrauch (g) (Konfidenzintervall von 95%)	73 (63;83) <sup>AB</sup>	73 (61;85) <sup>AB</sup>	87 (71;103) <sup>B</sup>	55 (47;63) <sup>A</sup>
Aktiver Wirkstoff gemäß Herstellerangaben	-	-	NaF	NaF

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Ergebnisse

Für die vorliegende Studie wurden drei Arbeitshypothesen aufgestellt. Mit der ersten Hypothese sollte die antikariogene Wirkung einer fluoridfreien, nanohydroxylapatithaltigen Zahnpasta im Vergleich zu einer fluoridfreien Zahnpasta ohne Nanohydroxylapatit in Bezug auf die Mineralverlustveränderung ( $\Delta\Delta Z$ ) nachgewiesen werden. Unabhängig von der Zahnhartsubstanz (Schmelz bzw. Dentin) sowie unter De- und Remineralisationsbedingungen, konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Behandlung mit nanokristallinem Zink-Carbonat-Hydroxylapatit ( $nHA_0$ ) und der Negativkontrolle ( $NaF_0$ ) in der Mineralverlustveränderung ( $\Delta\Delta Z$ ) festgestellt werden, sodass die erste Hypothese abgelehnt wurde. Dieses Ergebnis wurde ebenfalls in einer In-vitro-Studie unter demineralisierenden Bedingungen beobachtet (Esteves-Oliveira, et al., 2017b), in welcher Schmelzproben unter anderem mit einer nanohydroxylapatithaltigen und einer fluoridfreien Zahnpasta behandelt wurden. Im Gegensatz dazu wurde *in vitro* unter remineralisierenden Bedingungen ein tendenziell erhöhtes Remineralisationsvermögen bei Schmelzproben und ein signifikant erhöhtes bei Dentinproben, im Vergleich zu einer fluoridhaltigen Zahnpasta beobachtet (Tschoppe, et al., 2011). Diese widersprüchlichen Ergebnisse weisen darauf hin, dass die remineralisierenden Eigenschaften des nanokristallinen Zink-Carbonat-Hydroxylapatit insbesondere auf das Studiendesign mit einer wahrscheinlich ausschließlich remineralisierenden Bedingung zurückzuführen sind. Da unter demineralisierenden Bedingungen sowohl *in vitro* als auch *in situ* keine remineralisierenden Effekte beobachtet werden konnten. Ein weiterer Grund, weshalb kein signifikanter Unterschied in der Wirkung zwischen der  $NaF_0$  und der  $nHA_0$  Zahnpasta beobachtet werden konnte, könnte der neutrale pH-Wert der nanokristallhaltigen Zink-Carbonat-Hydroxylapatit-Zahnpasta ( $pH = 8,2$ ) sein. Fluoridhaltige Zahnpasten weisen teilweise neben dem Fluoridgehalt auch einen leicht sauren pH-Wert auf und bewirken somit eine Demineralisierung der Zahnhartsubstanz (Buzalaf, et al., 2011). Diese leichte Demineralisierung ist erwünscht, um eine initiale Auflösung des Minerals im Schmelz hervorzuführen. Dadurch werden unter anderem Kalzium-Ionen freigesetzt, die sich anschließend mit den applizierten Stoffen (z.B. Fluoride) zu einem Präzipitat aus Kalziumfluorid verbinden (Buzalaf, et al.,

2011; Rolla, 1988). In einer kürzlich durchgeführten Studie wurde diese initiale Demineralisierung gefördert in dem der pH-Wert einer nanokristallhaltigen Zink-Carbonat-Hydroxylapatitlösung von 7 auf 4 gesenkt wurde. Die Ergebnisse zeigten einen dreifachen Anstieg des Schmelzmineralzuwachses (Huang, et al., 2011). Demnach könnte man spekulieren, dass eine nanokristallhaltige Zink-Carbonat-Hydroxylapatit-Zahnpasta mit einem niedrigeren pH-Wert auch unter demineralisierenden Bedingungen einen weiteren Mineralverlust verhindern könnte und ein Unterschied zu einer fluoridfreien Zahnpasta beobachtet werden könnte. Die tatsächliche antikariogene Wirkung von nanokristallinem Hydroxylapatit müsste in weiteren In-vitro- und In-situ-Studien untersucht werden.

Die zweite Hypothese lautete, dass unabhängig von der Fluoridkonzentration, die gesunden und niedrig demineralisierten Zahnoberflächen eine signifikant größere Mineralverlustveränderung ( $\Delta\Delta Z$ ) aufweisen als die hoch demineralisierten Läsionen. Unter demineralisierenden Bedingungen ( $nHA_0$  und  $NaF_0$ ) konnte die Hypothese bestätigt werden. Denn für die gesunden Zahnoberflächen wurde eine höhere Demineralisierung, gekennzeichnet durch einen signifikant größeren Unterschied im Mineralverlust beobachtet als bei den hoch demineralisierten Oberflächen der Schmelz- und Dentinproben. Bei den Dentinproben mit einer niedrig demineralisierten Oberfläche ( $D_N$ ) konnte ebenfalls eine Demineralisierung und damit auch eine größere Mineralverlustveränderung festgestellt werden als bei den Dentinproben mit einer hoch demineralisierten Läsion ( $D_H$ ). Wohingegen unter remineralisierenden Bedingungen ( $NaF_{1100}$  und  $NaF_{5000}$ ) die aufgestellte Hypothese abgelehnt werden musste, da bei den hoch demineralisierten Läsionen eine stärkere Remineralisierung beobachtet werden konnte. Diese Remineralisierung war gekennzeichnet durch eine positive und signifikant größere Mineralverlustveränderung als bei den gesunden und niedrig demineralisierten Zahnoberflächen. Die aufgeführten Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen einer vorherigen In-vitro-Studie, bezüglich der re- und demineralisierenden Eigenschaften von bovinen Dentinproben mit unterschiedlichen Läsionstiefen überein (Lippert, et al., 2015). Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass die Re- und Demineralisierungseigenschaften von der Ausgangssituation der Probe abhängen. Die hier in der Studie verwendeten *in vitro* erzeugten Läsionen zeigten alle eine mineralisierte pseudointakte Oberflächenschicht auf.



Diese gebildete mineralisierte Oberflächenschicht stellt eine Barriere zum einen für die Auflösung des Minerals und zum anderen für die Diffusion von Säuren in tiefere Bereiche der Läsion dar. Dieser Hemmungsmechanismus nimmt mit der Tiefe einer Läsion zu (Arends & Christoffersen, 1986). Bei den gesunden Oberflächen fehlt diese mineralisierte Oberflächenschicht, sodass diese Barriere zunächst nicht vorhanden ist, ehe sie nach einer anfänglichen Demineralisation ausgebildet werden kann. Bei den hoch demineralisierten Läsionen könnte die Demineralisierung aufgrund dieses Hemmmechanismus vermindert sein. In dieser Studie wurden niedrig und hoch demineralisierte Dentinproben verwendet. Denn es wurde bereits beobachtet, dass in einem demineralisierenden In-situ-Modell Schmelzproben mit einer niedrig demineralisierten Läsion besser geeignet zu sein scheinen als Schmelzproben mit einer hoch demineralisierten Läsion (Wierichs et al., 2016). Mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie, scheint diese Beobachtung ebenfalls für Dentinproben mit einer niedrig demineralisierten Läsion übereinzustimmen. Für ein remineralisierendes In-situ-Modell scheinen jedoch Proben mit einer hoch demineralisierten Läsion geeigneter zu sein.

Die Behandlungsgruppen NaF<sub>5000</sub> der beiden Dentinegruppen D<sub>N</sub> und D<sub>H</sub> zeigten in Bezug auf die Differenz des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) im Vergleich zu der Standardtherapie NaF<sub>1100</sub> und den beiden nicht fluoridhaltigen Behandlungen nHA<sub>0</sub> und NaF<sub>0</sub> einen signifikant höheren Mineralgewinn und damit eine Remineralisation. Zudem konnte für die Behandlungsgruppe NaF<sub>5000</sub> die stärkste Korrelation zwischen dem Grundmineralverlust der Proben und der Differenz des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) beobachtet werden. Im Gegensatz dazu führte die Behandlung mit der NaF<sub>5000</sub> Zahnpasta an den demineralisierten Dentineoberflächen jedoch zu keiner signifikanten Läsionstiefenreduktion. Stattdessen konnte in den Mineralprofilen dieser Behandlungsgruppe zwar eine breitere mineralisierte Oberflächenschicht beobachtet werden, allerdings auch die Bildung eines zweiten Läsionskörpers. Diese Erscheinung und ebenfalls das Voranschreiten der Läsionstiefe wurde zudem in In-vitro-Studien festgestellt, in der künstliche Dentineläsionen in einem pH-zyklischen-Studienmodell mit einer hochfluoridierten Zahnpasta (5000 ppm F<sup>-</sup>) behandelt wurden (Walther, et al., 2018; Wierichs et al., 2020b). Fluoride erhöhen die Remineralisierung von anfänglich demineralisiertem Zahnschmelz und Dentin durch Absorption an der Oberfläche (Buzalaf, et al., 2011). Der signifikante Mineralgewinn ( $\Delta\Delta Z$ ) der

behandelten Dentinläsionen deutet darauf hin, dass zunehmend Fluoride und Mineralien in der Oberfläche der bestehenden Läsion eingebaut wurden. Das Fluorid wird durch Substitution an den Hydroxylapatitkristallen aufgenommen (Hoppenbrouwers et al., 1987). Die in der Oberflächenschicht eingebauten Fluor-Hydroxylapatit-Kristalle sind zwar erst ab einem niedrigeren pH-Wert (4,7) säurelöslich, verringern jedoch die Pufferkapazität im Vergleich zu Hydroxylapatitkristallen (Brown, et al., 1977; Lussi, et al., 2012). Ein Grund für die Ausbildung eines zweiten Läsionskörpers könnte somit sein, dass die Säuren diese mineralisierte Kristallstruktur weiterhin ohne eine Neutralisation passieren konnten und entlang der Dentintubuli eine Säureauflösung bewirkten (ten Cate et al., 2006; Tschoppe & Meyer-Lueckel, 2011).

Im Weiteren konnte die dritte Hypothese bestätigt werden. Mit der Wahl eines etablierten In-situ-Modells (Meyer-Lueckel, et al., 2015a; Wierichs, et al., 2016), konnte für gesunde Schmelz- und Dentinoberflächen, sowie für niedrig und hoch demineralisierte Dentin- und Schmelzläsionen eine signifikante Korrelation zwischen der Mineralverlustveränderung ( $\Delta\Delta Z$ ) und den Fluoridkonzentrationen 0, 1100 und 5000 ppm beobachtet und damit eine Dosis-Wirkungs-Beziehung belegt werden.

In einer aktuellen Metaanalyse konnten bisher positive Dosisantworten zwischen verschiedenen Fluoridkonzentrationen in Zahnputzmitteln und der Kariesreduktion im Schmelz dargestellt werden (Walsh, et al., 2019). Für Dentin wurde bisher in einer pH-zyklischen In-vitro-Studie eine Fluorid-Dosis-Wirkungs-Beziehung nachgewiesen (Wierichs, et al., 2020b). Jedoch wurden erst einige wenige In-situ-Studien durchgeführt, die eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen Fluoriden und Zahnschmelz darstellen (Dunipace et al., 1997; Meyer-Lueckel, et al., 2015a; Stephen et al., 1992). Für Dentin wurde bisher in einer In-vitro-Studie die karieshemmende Wirkung von verschiedenen Fluoridverbindungen analysiert (Fernandez et al., 2017). Zudem konnte in einer In-Situ-Studie die Kariesprogression an prädemineralisierten Dentinproben mittels fluoridfreier Wirkstoffe untersucht werden, wobei die Gesamtfluoridaufnahme der Probanden reduziert wurde (Bizhang et al., 2015). Jedoch wurde bisher keine In-situ-Studie durchgeführt, in der auch für Dentin eine Fluorid-Dosis-Wirkungs-Beziehung beobachtet werden konnte, sodass die Ergebnisse der vorliegenden Studie verglichen werden könnten.

## 5.2 Diskussion von Material und Methode

### 5.2.1 Versuche mit bovinen Zahnproben und künstlichen Läsionen

In der vorliegenden Studie wurden für einen In-situ-Versuch bovine Schmelz- und Dentinproben mit einer künstlich hergestellten Läsion verwendet. Der Vorteil darin liegt, dass bovine Zahnproben im Gegensatz zu humanen Zahnproben in größeren Mengen beschaffen werden können und die Herstellung einer künstlichen Läsion mit relativ geringem Aufwand erfolgt. Zudem weisen die Mineralisierungsmuster von bovinen Zahnproben geringere Schwankungen auf, was zu einer gleichmäßigen experimentellen Reaktion führt (Kielbassa et al., 2006; Mellberg, 1992). Jedoch ist zu beachten, dass bovine Zahnproben poröser als humane Zahnproben sind, was zu schnelleren Mineralveränderungen und Diffusionsraten und folglich zu einer schnelleren Bildung von Läsionen führt (Edmunds et al., 1988). Die künstlich hergestellten Läsionen an den Schmelz- und Dentinproben wurden jeweils mit Hilfe eines etablierten Verfahrens innerhalb weniger Tage (Dentin 7 Tage und Schmelz 21 Tage) erzeugt (Buskes, et al., 1985; Walther, et al., 2018; Wierichs, et al., 2018a; Wierichs, et al., 2017b). Dabei ist die Zusammensetzung der Demineralisationslösung in Bezug auf das angewandte Substrat, die Dauer der Anwendung und der gleichbleibende pH-Wert entscheidend. Durch die kontrollierte Herstellung einer Läsion und die anschließende Auswertung mittels der TMR-Analyse, war es möglich in dieser Studie für alle drei Substratgruppen einen einheitlichen Ausgangszustand der zu behandelnden Läsionstiefen zu schaffen und diese zu vergleichen. Im Gegensatz dazu variieren natürliche Läsionen, die im Munde eines Patienten entstehen. Sie unterscheiden sich in ihrer Läsionstiefe, in der Dicke der Oberflächenschicht, im Porenvolumen und im Mineralverlust und zwar bedingt durch eine inhomogene Plaqueanlagerung, Mundhygiene und das individuelle Ernährungsverhalten (Meyer-Lueckel, et al., 2007b). Jedoch ist zu beachten, dass der natürliche Prozess einer kariösen Läsion im Dentin *in vitro* nicht vollständig nachgeahmt werden kann, da die *in vivo* auftretenden biologischen Reaktionen, wie z.B. tote Trakte, mineralisierte Tubuli oder sekundäres Dentin ausbleiben (Hara et al., 2004; Wefel et al., 1995). In einer In-situ-Studie von Hara et al. (2003) konnte aber weiterhin kein Unterschied im Mineralverlust und der Läsionstiefe zwischen humanen und bovinen Proben nach der In-situ-Phase festgestellt werden. Dies

fürte zu deren Schlussfolgerung, dass bovine Dentinproben anstelle von humanen Proben zur Untersuchung einer Kariesentwicklung und -inhibition verwendet werden können (Hara et al., 2003).

### 5.2.2 Die Mineraldichte der Proben als zusätzlicher Einflussfaktor

Für den In-situ-Versuch wurden die Dentinproben in zwei unterschiedliche Substratgruppen unterteilt. Die Dentinproben mit einer niedrig demineralisierten Läsion ( $D_N$ ) und die mit einer hoch demineralisierten Läsion ( $D_H$ ) unterschieden sich im mittleren Mineralverlust und der Läsionstiefe. Dabei ist zu erwähnen, dass alle Dentinproben der In-vitro-Demineralisation einer identischen Zeit von 7 Tagen ausgesetzt wurden. Diese Beobachtung deutet darauf hin, dass zusätzlich zum Grundmineralverlust der Dentinproben, die Mineralverteilung und damit die Löslichkeit ebenfalls einen Einfluss auf den De- und Remineralisierungsgrad haben kann (Lippert et al., 2011; Lynch et al., 2007). In der Studie von Lynch et al. (2007) wird die Mineralverteilung von Schmelzproben mit dem „R-Wert“ beschrieben, welcher sich aus dem Verhältnis des Grundmineralverlustes zur Läsionstiefe ergibt ( $\Delta Z_{\text{Grundwert}}/LT_{\text{Grundwert}}$ ). Es konnte gezeigt werden, dass Läsionen mit einem gleichen Grundmineralverlust, aber einer unterschiedlichen Läsionstiefe, demnach mit einem hohen oder niedrigen „R-Wert“ unter remineralisierenden Bedingungen unterschiedlich reagieren (Lynch, et al., 2007). In einer weiteren Studie wurde beobachtet, dass unter demineralisierenden Bedingungen die Schmelzproben mit einer schwach demineralisierten Läsion, folglich einem niedrigen „R-Wert“, mehr demineralisierten als die stark demineralisierten Läsionen mit einem hohen „R-Wert“ (Wierichs, et al., 2016). Die Ergebnisse dieser In-situ-Studie zeigten, dass der „R-Wert“ ebenfalls bei Dentinproben zu berücksichtigen ist, denn auch hier konnte beobachtet werden, dass unter remineralisierenden Bedingungen die Dentinproben mit einer hohen Läsion und damit einem hohen „R-Wert“ mehr remineralisierten als die niedrig demineralisierten Dentinläsionen mit einem niedrigen „R-Wert“. Unter demineralisierenden Bedingungen demineralisierten die Dentinproben mit einer niedrigen Läsion mehr als die mit einer hohen Läsion.

### 5.2.3 Design des In-situ-Modells

Sowohl für Schmelz als auch für Dentin gilt, dass die anfänglichen Schritte zur Ausbildung einer kariösen Läsion, durch die säurebedingte Auflösung des Hydroxylapatits erfolgt (Wefel, 1994). Demnach konnte in vorherigen Studien anhand von Schmelzproben festgestellt werden, dass auch das Design eines In-situ-Modells und die vom Modell erzeugte Umgebung, einen übergeordneten Einfluss auf die Re- und Demineralisierungseigenschaften hat (Zero, 1995). In einem Demineralisierungs-in-situ-Modell wurde eine verringerte Änderung des Mineralverlustes ( $\Delta\Delta Z$ ) und der Läsionstiefe ( $\Delta LT$ ), bei einem zunehmenden Grundmineralverlust ( $\Delta Z_{\text{Grundwert}}$ ) und einer zunehmenden Läsionstiefe ( $LT_{\text{Grundwert}}$ ), beobachtet. Demzufolge steigt das Potenzial einer Demineralisierung unter demineralisierenden Bedingungen bei Proben mit einem geringen Grundmineralverlust und einer geringen Läsionstiefe (Wierichs, et al., 2016). Wohingegen unter remineralisierenden Bedingungen ein erhöhtes Potenzial der Remineralisierung bei Proben mit einem zunehmenden Grundmineralverlust und einer erhöhten Läsionstiefe beobachtet wurde (Strang et al., 1987). In der vorliegenden Studie wurden zwei fluoridhaltige Zahnpasten und zwei fluoridfreie Zahnpasten verwendet. Die Ergebnisse zeigten, dass die Behandlungen mit jeweils einer fluoridierten Zahnpasta ( $\text{NaF}_{1100}$  und  $\text{NaF}_{5000}$ ) remineralisierende Bedingungen darstellten. Die fluoridfreie ( $\text{NaF}_0$ ) und die nanokristallhaltige Zink-Carbonat-Hydroxylapatit-Zahnpasta ( $\text{nHA}_0$ ) stellten hingegen demineralisierende Bedingungen dar. Somit ermöglichte die Wahl der zu testenden Zahnpasten sowohl remineralisierende als auch demineralisierende Bedingungen in einer Studie zu erzeugen, und somit ebenfalls die Beziehungen aus den beiden zuvor erwähnten Studien zu bestätigen.

Ein weiterer Punkt ist die in dieser Studie gewählte Position der Proben in der In-situ-Apparatur und die zusätzliche Abdeckung aller Proben mit einem Netz. Um eine Plaqueretention zu ermöglichen und damit einen schwer reinigbaren Bereich, wie zum Beispiel einen Approximalkontakt zu imitieren wurden die Proben 1 mm vertieft inseriert und zusätzlich mit einem Netz abgedeckt. Dadurch wurden die Proben von der Wange und der Gingiva geschützt und eine ungestörte Reifung des Biofilms gefördert (Teughels et al., 2006). Es konnte in einer In-situ-Studie festgestellt werden, dass die 1 mm vertiefte Position der

Proben eine verbesserte Plaqueretention ermöglichte als bei den Proben, die bündig zur äußeren Fläche der Kunststoffhalterung positioniert wurden. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die zugeführten Fluoride in diesen Bereichen, ohne ein manuelles Bürsten der Proben, eine Demineralisation verhindern konnten (Meyer-Lueckel et al., 2007a). Zudem wurde es beobachtet, dass eine sich gegenüberstehende Ausrichtung von Proben, um damit einen räumlichen Approximalkontakt nachzuahmen, die Plaqueretention und damit die Demineralisation unwesentlich beeinflusst hat (Meyer-Lueckel et al., 2015b; Thomas et al., 2007). Darauf aufbauend wurden die Proben in dieser vorliegenden Studie wie beschrieben positioniert.

In einer weiteren In-situ-Studie von Meyer-Lückel et al. (2015) wurde in einem direkten Vergleich zwischen abgedeckten und leicht zu reinigenden Proben festgestellt, dass eine fluoriddosisabhängige Remineralisation nur bei den mit einem Netz abgedeckten Proben zu beobachten war und dieses Design für weitere In-situ-Studien zu empfehlen ist (Meyer-Lueckel, et al., 2015a). Diese Beobachtungen sind darauf zurück zu führen, dass die Plaque ebenfalls als Fluorid-Depot dient und diese abgeben kann (Zero, et al., 1992). Jedoch ist zu bedenken, dass es individuelle Unterschiede in der Plaquebildung gibt, sodass die Ausbildung und Zusammensetzung bezogen auf die vierwöchige In-situ-Phase variieren konnte. Demnach sollte in folgenden In-situ-Studien unbedingt eine Analyse des unter dem Netz angesammelten Biofilms bezüglich des Gewichtes und der Zusammensetzung durchgeführt werden.

#### **5.2.4 Anzahl der Proben in der In-situ-Apparatur**

In dieser In-situ-Studie wurden für jede Behandlungsphase insgesamt 6 Proben eingebaut. Pro Seite wurde eine Schmelzprobe mit einer hohen Läsion und zwei Dentinproben mit einer hohen und einer niedrigen Läsion verwendet. Im Gegensatz dazu wurden in vorherigen Studien insgesamt 8 bovine Proben in eine In-situ-Apparatur eingebaut (Meyer-Lueckel, et al., 2007a; Meyer-Lueckel, et al., 2015a; Meyer-Lueckel, et al., 2015b). Die Beziehung zwischen der Substratgrundlage und den Re- und Demineralisierungseigenschaften für Schmelz wurde zum einen bereits mit demselben In-situ-Modell (Wierichs, et al., 2016) und zum anderen in zahlreichen anderen In-situ-Modellen untersucht (Lippert, et al., 2011; Mellberg, 1991; Strang, et al., 1987). Diese Studie sollte

dazu dienen, diese Beziehung ebenfalls für Dentinproben zu analysieren. Folglich konnte die Anzahl der Proben um zwei Schmelzproben in der In-situ-Apparatur reduziert werden. Dadurch konnte ein erhöhter Tragekomfort für die Probanden erzielt und damit im Endeffekt die Compliance gesteigert werden, was eventuell dafür gesorgt hat, dass alle Probanden die Studie erfolgreich beendeten haben.

### 5.3 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

1. Eine fluoridfreie, nanohydroxylapatithaltige Zahnpasta konnte in diesem In-situ-Modell die Demineralisation sowohl an gesunden Dentinoberflächen als auch an niedrigen und hohen Dentinläsionen im Vergleich zu einer fluoridfreien Zahnpasta nicht aufhalten.
2. Der Ausgangszustand einer bovinen Dentinprobe stand im direkten Zusammenhang mit den Re- und Demineralisierungseigenschaften. Unter demineralisierenden Bedingungen tendierten gesunde und niedrig demineralisierte Dentinoberflächen mehr zu demineralisieren als hoch demineralisierte Dentinläsionen. Unter remineralisierenden Bedingungen tendierten hoch demineralisierte Dentinläsionen mehr zu remineralisieren als gesunde und niedrig demineralisierte Dentinoberflächen.
3. Es wurde eine Dosis-Wirkungs-Beziehung für fluoridhaltige Zahnpasten der Konzentrationen 0, 1100 und 5000 ppm F<sup>-</sup> sowohl an Schmelzproben als auch an gesunden, niedrigen und hohen Dentinläsionen nachgewiesen und das Voranschreiten einer Demineralisation verhindert.
4. Die Behandlung mit einer hochfluoridhaltigen Zahnpasta (NaF<sub>5000</sub>) führte im Vergleich zu einer standardfluoridhaltigen Zahnpasta (NaF<sub>1100</sub>) zu signifikant mehr Mineralgewinn. Es bildete sich jedoch ein zweiter Läsionskörper aus.

## 6 Zusammenfassung

### Zusammenfassung der Arbeit

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med. dent.

### **Einfluss von fluoridfreien, nanohydroxylapatithaltigen und fluoridierten Zahnpasten auf die Re- und Demineralisationseigenschaften von Dentin und Schmelz *in situ***

eingereicht von Julia Paulina Musiol

angefertigt an der Poliklinik für Zahnerhaltung und Parodontologie des  
Universitätsklinikums Leipzig

betreut von Prof. Dr. Marcella Esteves Oliveira

März 2021

Ziel dieser randomisierten In-situ-Kreuzstudie war es, zum einen die antikariogene Wirkung einer neuartigen nanokristallhaltigen Zink-Carbonat-Hydroxylapatit Zahnpasta an bovinen Schmelz- und Dentinproben auf jeweils einer gesunden Zahnoberfläche und einer künstlich erzeugten, karies-ähnlichen Läsion zu untersuchen und die Re- und Demineralisationseigenschaften hinsichtlich des Ausgangszustandes der Probe zu erfassen. Zudem sollte eine Fluorid-Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen den Zahnpasten der Konzentrationen 0, 1100 und 5000 ppm F<sup>-</sup> und Dentinproben mit künstlich hergestellten niedrigen und hohen Läsionen nachgewiesen werden. Es wurde zunächst an 250 bovinen Schmelz- und 400 Dentinproben mittels Demineralisationslösungen künstliche, kariesähnliche Läsionen erzeugt. Anschließend wurden drei homogene Substratgruppen (n = 160) gebildet, wobei zwischen Schmelzproben mit einer hohen Läsion (S<sub>H</sub>) und Dentinproben mit einer niedrigen (D<sub>N</sub>) und einer hohen Läsion (D<sub>H</sub>) unterschieden wurde. Für den In-situ-Versuch wurden 20 geeignete Probanden ausgewählt und für deren



Unterkiefer je eine tragbare intraorale Apparatur angefertigt. Es wurden insgesamt vier Zahnpasten einbezogen. Eine fluoridfreie Zahnpasta mit nanokristallinen Zink-Carbonat-Hydroxylapatit ( $nHA_0$ ), zwei fluoridhaltige Zahnpasten mit den Konzentrationen 1100 ppm  $F^-$  (Standardtherapie  $NaF_{1100}$ ) und 5000 ppm  $F^-$  (Positivkontrolle  $NaF_{5000}$ ) und eine fluoridfreie Negativkontrolle ( $NaF_0$ ). Für jede der vier Behandlungsphasen wurden vier Dentinproben ( $2 \times D_N$ ;  $2 \times D_H$ ) und zwei Schmelzprobe ( $S_H$ ) verwendet. Die Proben und Zahnpasten wurden dem jeweiligen Probanden zufällig zugeteilt. Jede Probe wies eine geschützte Kontrolloberfläche (GK), eine Gesundfläche (GB) und eine demineralisierte Läsion auf (DB). Jede der vier Behandlungsphasen begann mit einer apparaturfreien Einführungswoche und einer anschließenden Tragezeit von 22 Stunden/Tag für 4 Wochen. Die Tragezeit wurde täglich für  $3 \times 40$  Minuten unterbrochen, indem die Apparatur in einer 10%igen Saccharoselösung aufbewahrt wurde. Zudem wurde  $2 \times$  täglich für 2 Minuten ein Zahnpasta-Speichel-Gemisch extraoral auf die mit einem Netz bedeckten Proben appliziert. Die Mineralverlustveränderungen ( $\Delta\Delta Z$ ) und die Läsionstiefen ( $\Delta LT$ ) wurden aus den Werten vor und nach der In-situ-Phase mittels transversaler Mikroradiographie (TMR) berechnet. Nach der In-situ-Phase wurden insgesamt 123 Schmelz und 282 Dentinproben in die Auswertung mit einbezogen. Es wurde kein signifikanter Unterschied zwischen der Behandlung mit nanokristallinem Zink-Carbonat-Hydroxylapatit ( $nHA_0$ ) und der Negativkontrolle ( $NaF_0$ ) beobachtet ( $\Delta\Delta Z_{DB}$ :  $p \geq 0,333$  und  $\Delta\Delta Z_{GB}$ :  $p \geq 0,462$ ; ANCOVA). Unter demineralisierenden Bedingungen ( $nHA_0$  und  $NaF_0$ ) zeigten die Differenz  $\Delta\Delta Z$  und  $\Delta LT$ , dass gesunde ( $p \leq 0,001$ ; ANCOVA) und niedrig demineralisierte Dentinoberflächen ( $p \leq 0,011$ ; ANCOVA) eine signifikant größere Demineralisation aufzeigten als hohe Dentinläsionen. Unter remineralisierenden Bedingungen ( $NaF_{1100}$  und  $NaF_{5000}$ ) hingegen zeigten hoch demineralisierte Dentinproben die höchste Remineralisation auf ( $p = 0,003$ ; ANCOVA). Es wurde für die  $S_H$ - und  $D_N$ - eine moderate und für die  $D_H$ -Gruppe eine starke Korrelation zwischen den zunehmenden Fluoridkonzentrationen (0, 1100, 5000 ppm) und den Differenzen des Mineralverlustes beobachtet ( $\Delta\Delta Z_{GB}$ ;  $\Delta\Delta Z_{DB}$ ,  $p < 0,001$ ). Demnach konnte in diesem In-situ-Modell eine Fluorid-Dosis-Wirkungs-Beziehung in Bezug auf die Ausgangssituation nachgewiesen werden und eine erhöhte antikariogene Wirkung einer Zahnpasta mit nanokristallinem Zink-Carbonat-Hydroxylapatit im Vergleich zu einer fluoridfreien Zahnpasta nicht bewiesen werden.

## 7 Literaturverzeichnis

- Angmar, Carlstrom, & Glas. (1963). Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. *J Ultrastruct Res*, 8, 12-23.
- Arends, & Christoffersen. (1986). The nature of early caries lesions in enamel. *J Dent Res*, 65(1), 2-11.
- Arends, & Christoffersen. (1990). Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res*, 69 Spec No, 601-605; discussion 634-606.
- Arnold, Dean, & Knutson. (1953). Effect of fluoridated public water supplies on dental caries prevalence. *Public Health Rep*, 68(2), 141-148.
- Baysan, Lynch, Ellwood, Davies, Petersson, & Borsboom. (2001). Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5,000 and 1,100 ppm fluoride. *Caries Res*, 35(1), 41-46.
- Bergman, & Lind. (1966). A quantitative microradiographic study of incipient enamel caries. *J Dent Res*, 45(5), 1477-1484.
- Biesbrock, Gerlach, Bollmer, Faller, Jacobs, & Bartizek. (2001). Relative anti-caries efficacy of 1100, 1700, 2200, and 2800 ppm fluoride ion in a sodium fluoride dentifrice over 1 year. *Community Dent Oral Epidemiol*, 29(5), 382-389.
- Bizhang, Kaleta-Kragt, Singh-Husgen, Altenburger, & Zimmer. (2015). Effect of 10% fluoride on the remineralization of dentin in situ. *J Appl Oral Sci*, 23(6), 562-570.
- Bowen. (2013). The Stephan Curve revisited. *Odontology*, 101(1), 2-8.
- Brading, Cromwell, Green, DeBrabander, Beasley, & Marsh. (2004). The role of Triclosan in dentifrice formulations, with particular reference to a new 0.3% Triclosan calcium carbonate-based system. *Int Dent J*, 54(5 Suppl 1), 291-298.
- Bratthall, & Hansel Petersson. (2005). Cariogram--a multifactorial risk assessment model for a multifactorial disease. *Community Dent Oral Epidemiol*, 33(4), 256-264.
- Bratthall, Hansel-Petersson, & Sundberg. (1996). Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *Eur J Oral Sci*, 104(4 ( Pt 2)), 416-422; discussion 423-415, 430-412.
- Brown, Gregory, & Chow. (1977). Effects of fluoride on enamel solubility and cariostasis. *Caries Res*, 11 Suppl 1, 118-141.
- Bruun, Givskov, & Thylstrup. (1984). Whole saliva fluoride after toothbrushing with NaF and MFP dentifrices with different F concentrations. *Caries Res*, 18(3), 282-288.

- Buchalla, Attin, Roth, & Hellwig. (2003). Influence of olive oil emulsions on dentin demineralization in vitro. *Caries Res*, 37(2), 100-107.
- Buskes, Christoffersen, & Arends. (1985). Lesion formation and lesion remineralization in enamel under constant composition conditions. A new technique with applications. *Caries Res*, 19(6), 490-496.
- Buzalaf, Pessan, Honorio, & Ten Cate. (2011). Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci*, 22, 97-114.
- Darling. (1958). Studies of the early lesion of enamel caries. *Br Dent J*.
- Dawes. (2003). What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? *J Can Dent Assoc*, 69(11), 722-724.
- De Jong, & Borm. (2008). Drug delivery and nanoparticles: applications and hazards. *Int J Nanomedicine*, 3(2), 133-149.
- Dean, Arnold, Jay, & Knutson. (1950). Studies on mass control of dental caries through fluoridation of the public water supply. *Public Health Rep*, 65(43), 1403-1408.
- Dijkman, Schuthof, & Arends. (1986). In vivo remineralization of plaque-induced initial enamel lesions--a microradiographic investigation. *Caries Res*, 20(3), 202-208.
- Dirks. (1974). The benefits of water fluoridation. *Caries Res*, 8(0), suppl:2-15.
- Dunipace, Hall, Kelly, Beiswanger, Fischer, Lukantsova, . . . Stookey. (1997). An in situ interproximal model for studying the effect of fluoride on enamel. *Caries Res*, 31(1), 60-70.
- Edmunds, Whittaker, & Green. (1988). Suitability of human, bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. *Caries Res*, 22(6), 327-336.
- Ekstrand, Martignon, & Christiansen. (2007). Frequency and distribution patterns of sealants among 15-year-olds in Denmark in 2003. *Community Dent Health*, 24(1), 26-30.
- Enax, & Eppe. (2018). Synthetic Hydroxyapatite as a Biomimetic Oral Care Agent. *Oral Health Prev Dent*, 16(1), 7-19.
- Esteves-Oliveira, El-Sayed, Dorfer, & Schwendicke. (2017a). Impact of combined CO2 laser irradiation and fluoride on enamel and dentin biofilm-induced mineral loss. *Clin Oral Investig*, 21(4), 1243-1250.
- Esteves-Oliveira, Pasaporti, Heussen, Eduardo, Lampert, & Apel. (2011a). Rehardening of acid-softened enamel and prevention of enamel softening through CO2 laser irradiation. *J Dent*, 39(6), 414-421.

- Esteves-Oliveira, Santos, Meyer-Lueckel, Wierichs, & Rodrigues. (2017b). Caries-preventive effect of anti-erosive and nano-hydroxyapatite-containing toothpastes in vitro. *Clin Oral Investig*, 21(1), 291-300.
- Esteves-Oliveira, Zezell, Ana, Yekta, Lampert, & Eduardo. (2011b). Dentine caries inhibition through CO(2) laser (10.6µm) irradiation and fluoride application, in vitro. *Arch Oral Biol*, 56(6), 533-539.
- Esteves-Oliveira, Zezell, Meister, Franzen, Stanzel, Lampert, . . . Apel. (2009). CO2 Laser (10.6 microm) parameters for caries prevention in dental enamel. *Caries Res*, 43(4), 261-268.
- Featherstone. (1999). Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol*, 27(1), 31-40.
- Featherstone. (2004a). The caries balance: the basis for caries management by risk assessment. *Oral Health Prev Dent*, 2 Suppl 1, 259-264.
- Featherstone. (2004b). The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res*, 83 Spec No C, C39-42.
- Featherstone, Shields, Khademazad, & Oldershaw. (1983). Acid reactivity of carbonated apatites with strontium and fluoride substitutions. *J Dent Res*, 62(10), 1049-1053.
- Fejerskov. (1997). Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol*, 25(1), 5-12.
- Fejerskov. (2004). Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res*, 38(3), 182-191.
- Fernandez, Tenuta, Del Bel Cury, Nobrega, & Cury. (2017). Effect of 5,000 ppm Fluoride Dentifrice or 1,100 ppm Fluoride Dentifrice Combined with Acidulated Phosphate Fluoride on Caries Lesion Inhibition and Repair. *Caries Res*, 51(3), 179-187.
- Fischer, Lussi, & Hotz. (1995). [The cariostatic mechanisms of action of fluorides. A review]. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 105(3), 311-317.
- Fitzgerald, Jordan, & Stanley. (1960). Experimental caries and gingival pathologic changes in the gnotobiotic rat. *J Dent Res*, 39, 923-935.
- Frazier, Little, & Casciani. (1967). X-ray diffraction analysis of human enamel containing different amounts of fluoride. *Arch Oral Biol*, 12(1), 35-42.
- Goldberg, Kulkarni, Young, & Boskey. (2011). Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*, 3, 711-735.
- Goldberg, & Smith. (2004). Cells and Extracellular Matrices of Dentin and Pulp: A Biological Basis for Repair and Tissue Engineering. *Crit Rev Oral Biol Med*, 15(1), 13-27.

- Gwinnett. (1992). Structure and composition of enamel. *Oper Dent, Suppl* 5, 10-17.
- Hannig, & Hannig. (2010). Nanomaterials in preventive dentistry. *Nat Nanotechnol*, 5(8), 565-569.
- Hannig, & Hannig. (2012). Nanotechnology and its role in caries therapy. *Adv Dent Res*, 24(2), 53-57.
- Hara, Queiroz, Giannini, Cury, & Serra. (2004). Influence of the mineral content and morphological pattern of artificial root caries lesion on composite resin bond strength. *Eur J Oral Sci*, 112(1), 67-72.
- Hara, Queiroz, Paes Leme, Serra, & Cury. (2003). Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res*, 37(5), 339-344.
- Hellwig, Klimek, & Attin. (2009). *Einführung in die Zahnerhaltung: Prüfungswissen Kariologie, Endodontologie und Parodontologie* (5. Aufl.). Köln: Deutscher Zahnärzte Verlag.
- Hellwig, Klimek, Schmidt, & Egerer. (1985). Fluoride uptake in plaque-covered enamel after treatment with the fluoride lacquer Duraphat. *J Dent Res*, 64(8), 1080-1083.
- Hellwig, Schäfer, Klimek, & Attin. (2018). *Einführung in die Zahnerhaltung: Prüfungswissen Kariologie, Endodontologie und Parodontologie* (7. Aufl.). Köln: Deutscher Zahnärzte Verlag.
- Herkstroter, & Ten Bosch. (1990). Wavelength-independent microradiography: a method for non-destructive quantification of enamel and dentin mineral concentrations using polychromatic x-rays. *J Dent Res*, 69(8), 1522-1526.
- Hicks, Garcia-Godoy, & Flaitz. (2004). Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent*, 28(2), 119-124.
- Hoppenbrouwers, Driessens, & Borggreven. (1987). The demineralization of human dental roots in the presence of fluoride. *J Dent Res*, 66(8), 1370-1374.
- Huang, Gao, Cheng, & Yu. (2011). Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res*, 45(5), 460-468.
- Huang, Gao, & Yu. (2009). Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater*, 4(3), 034104.
- Jones, & Leaver. (1974). Studies on the minor components of the organic matrix of human dentine. *Arch Oral Biol*, 19(5), 371-380.

- Kamal, Okiji, Kawashima, & Suda. (1997). Defense responses of dentin/pulp complex to experimentally induced caries in rat molars: an immunohistochemical study on kinetics of pulpal Ia antigen-expressing cells and macrophages. *J Endod*, 23(2), 115-120.
- Keyes. (1960). The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Arch Oral Biol*, 1, 304-320.
- Kidd, Thylstrup, Fejerskov, & Bruun. (1980). Influence of fluoride in surface enamel and degree of dental fluorosis on caries development in vitro. *Caries Res*, 14(4), 196-202.
- Kielbassa, Hellwig, & Meyer-Lueckel. (2006). Effects of irradiation on in situ remineralization of human and bovine enamel demineralized in vitro. *Caries Res*, 40(2), 130-135.
- Lagerweij, & ten Cate. (2002). Remineralisation of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: an in situ study. *Caries Res*, 36(4), 270-274.
- Lippert, Churchley, & Lynch. (2015). Effect of Lesion Baseline Severity and Mineral Distribution on Remineralization and Progression of Human and Bovine Dentin Caries Lesions. *Caries Res*, 49(5), 467-476.
- Lippert, Lynch, Eckert, Kelly, Hara, & Zero. (2011). In situ fluoride response of caries lesions with different mineral distributions at baseline. *Caries Res*, 45(1), 47-55.
- Loesche. (1976). Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev*, 9, 65-107.
- Lussi, Hellwig, & Klimek. (2012). Fluorides - mode of action and recommendations for use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*, 122(11), 1030-1042.
- Lynch, Baysan, Ellwood, Davies, Petersson, & Borsboom. (2000). Effectiveness of two fluoride dentifrices to arrest root carious lesions. *Am J Dent*, 13(4), 218-220.
- Lynch, Mony, & ten Cate. (2007). Effect of lesion characteristics and mineralizing solution type on enamel remineralization in vitro. *Caries Res*, 41(4), 257-262.
- Marsh. (1994). Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res*, 8(2), 263-271.
- Mellberg. (1991). Relationship of original mineral loss in caries-like lesions to mineral changes in situ. Short communication. *Caries Res*, 25(6), 459-461.

- Mellberg. (1992). Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity in situ. *J Dent Res*, 71 Spec No, 913-919.
- Meyer-Lueckel, Bitter, & Kielbassa. (2007a). Effect of a fluoridated food item on enamel in situ. *Caries Res*, 41(5), 350-357.
- Meyer-Lueckel, Paris, & Ekstrand. (2012). *Karies: Wissenschaft und Klinische Praxis* Stuttgart: Thieme
- Meyer-Lueckel, Paris, & Kielbassa. (2007b). Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. *Caries Res*, 41(3), 223-230.
- Meyer-Lueckel, Wierichs, Gninka, Heldmann, Dorfer, & Paris. (2015a). The effect of various model parameters on enamel caries lesions in a dose-response model in situ. *J Dent*, 43(10), 1261-1267.
- Meyer-Lueckel, Wierichs, Schellwien, & Paris. (2015b). Remineralizing efficacy of a CPP-ACP cream on enamel caries lesions in situ. *Caries Res*, 49(1), 56-62.
- Moron, Comar, Wiegand, Buchalla, Yu, Buzalaf, & Magalhaes. (2013). Different protocols to produce artificial dentine carious lesions in vitro and in situ: hardness and mineral content correlation. *Caries Res*, 47(2), 162-170.
- Najibfard, Ramalingam, Chedjieu, & Amaechi. (2011). Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *J Clin Dent*, 22(5), 139-143.
- Newesely. (1963). The Nature of Carbonate Contents in Tooth Mineral. *Experientia*, 19, 620-621.
- Ogaard. (1990). Effects of fluoride on caries development and progression in vivo. *J Dent Res*, 69 Spec No, 813-819; discussion 820-813.
- Ogaard, Rolla, & Arends. (1988a). In vivo progress of enamel and root surface lesions under plaque as a function of time. *Caries Res*, 22(5), 302-305.
- Ogaard, Rolla, Ruben, Dijkman, & Arends. (1988b). Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. *Scand J Dent Res*, 96(3), 209-211.
- Oliveby, Twetman, & Ekstrand. (1990). Diurnal fluoride concentration in whole saliva in children living in a high- and a low-fluoride area. *Caries Res*, 24(1), 44-47.
- Orams, Zybert, Phakey, & Rachinger. (1976). Ultrastructural study of human dental enamel using selected-area argon-ion-beam thinning. *Arch Oral Biol*, 21(11), 663-675.
- Paris, & Meyer-Lueckel. (2012). Paradigmenwechsel. In Meyer-Lueckel, Paris & Ekstrand (Hrsg.), *Karies - Wissenschaft und klinische Praxis*. (S. p. 70-75). Stuttgart: New York: Georg Thieme Verlag

- Reich. (2001). Trends in caries and periodontal health epidemiology in Europe. *Int Dent J*, 51(6 Suppl 1), 392-398.
- Robinson, Shore, Brookes, Strafford, Wood, & Kirkham. (2000). The chemistry of enamel caries. *Crit Rev Oral Biol Med*, 11(4), 481-495.
- Rolla. (1988). On the role of calcium fluoride in the cariostatic mechanism of fluoride. *Acta Odontol Scand*, 46(6), 341-345.
- Rolla, Ogaard, & Cruz Rde. (1993). Topical application of fluorides on teeth. New concepts of mechanisms of interaction. *J Clin Periodontol*, 20(2), 105-108.
- Schroeder. (2000). *Orale Strukturbilogie* (5. Auflage Aufl.). Stuttgart: Thieme
- Schulenburg. (2008). *Nanopartikel – kleine Dinge, große Wirkung Chancen und Risiken*. Bonn, Berlin Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) Referat „Nanomaterialien; Neue Werkstoffe“ 53170 Bonn.
- Schumacher. (1990). *Anatomie und Biochemie der Zähne* (4. Aufl.). Stuttgart: New York: Fischer.
- Shellis. (1996). A scanning electron-microscopic study of solubility variations in human enamel and dentine. *Arch Oral Biol*, 41(5), 473-484.
- Shellis. (2012). Ätiologie und Pathogenese der Karies In Meyer-Lueckel, Paris & Ekstrand (Hrsg.), *Karies -Wissenschaft und klinische Praxis* (S. 23-41). Stuttgart: New York: Georg Thieme Verlag
- Shovelton. (1972). The maintenance of pulp vitality. *Br Dent J*, 133(3), 95-101.
- Silverstone. (1973). Structure of carious enamel, including the early lesion. *Oral Sci Rev*, 3, 100-160.
- Splieth, Ekstrand, Alkilzy, Clarkson, Meyer-Lueckel, Martignon, . . . van Loveren. (2010). Sealants in dentistry: outcomes of the ORCA Saturday Afternoon Symposium 2007. *Caries Res*, 44(1), 3-13.
- Stephen, Creanor, Russell, Burchell, Huntington, & Downie. (1988). A 3-year oral health dose-response study of sodium monofluorophosphate dentifrices with and without zinc citrate: anti-caries results. *Community Dent Oral Epidemiol*, 16(6), 321-325.
- Stephen, Damato, & Strang. (1992). An in situ enamel section model for assessment of enamel re/demineralization potential. *J Dent Res*, 71 Spec No, 856-859.
- Strang, Damato, Creanor, & Stephen. (1987). The effect of baseline lesion mineral loss on in situ remineralization. *J Dent Res*, 66(11), 1644-1646.



- Tatevossian. (1980). Fluoride and magnesium in dental plaque. *Proc Finn Dent Soc*, 76(2), 103-112.
- ten Cate. (1994). In situ models, physico-chemical aspects. *Adv Dent Res*, 8(2), 125-133.
- ten Cate. (1997). Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci*, 105(5 Pt 2), 461-465.
- ten Cate, Exterkate, & Buijs. (2006). The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling. *Caries Res*, 40(2), 136-141.
- ten Cate, & Featherstone. (1991). Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med*, 2(3), 283-296.
- ten Cate, & van Loveren. (1999). Fluoride mechanisms. *Dent Clin North Am*, 43(4), 713-742, vii.
- Teughels, Van Assche, Sliepen, & Quirynen. (2006). Effect of material characteristics and/or surface topography on biofilm development. *Clin Oral Implants Res*, 17 Suppl 2, 68-81.
- Thomas, Ruben, ten Bosch, Fidler, & Huysmans. (2007). Approximal secondary caries lesion progression, a 20-week in situ study. *Caries Res*, 41(5), 399-405.
- Tschoppe, & Meyer-Lueckel. (2011). Mineral distribution of artificial dentinal caries lesions after treatment with fluoride agents in combination with saliva substitutes. *Arch Oral Biol*, 56(8), 775-784.
- Tschoppe, Zandim, Martus, & Kielbassa. (2011). Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent*, 39(6), 430-437.
- Twetmann, & Ekstrand. (2012). Karieskontrolle durch Beeinflussung der De- und Remineralisation. In Meyer-Lueckel, Paris & Ekstrand (Hrsg.), *Karies - Wissenschaft und klinische Praxis* (S. 194-212). Stuttgart: New York: Georg Thieme Verlag.
- Vandiver, Dean, Patel, Bonfield, & Ortiz. (2005). Nanoscale variation in surface charge of synthetic hydroxyapatite detected by chemically and spatially specific high-resolution force spectroscopy. *Biomaterials*, 26(3), 271-283.
- von Elm, Altman, Egger, Pocock, Gøtzsche, Vandenbroucke, & Initiative. (2014). The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *Int J Surg*, 12(12), 1495-1499.
- Walsh, Worthington, Glenny, Marinho, & Jerončić. (2019). Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev*, 3, CD007868.

- Walther, Kreibohm, Paris, Meyer-Lueckel, Tschoppe, & Wierichs. (2018). Effect of NaF, AmF, KF gels and NaF toothpaste combined with a saliva substitute on dentin lesions in vitro. *Clin Oral Investig*.
- Waters. (1971). The selectivity of human dental enamel to ionic transport. *Arch Oral Biol*, 16(3), 305-322.
- Waugh, Godfrey, Limeback, & Potter. (2017). Black Tea Source, Production, and Consumption: Assessment of Health Risks of Fluoride Intake in New Zealand. *J Environ Public Health*, 2017, 5120504.
- Wefel. (1994). Root caries histopathology and chemistry. *Am J Dent*, 7(5), 261-265.
- Wefel, Heilman, & Jordan. (1995). Comparisons of in vitro root caries models. *Caries Res*, 29(3), 204-209.
- White, & Nancollas. (1990). Physical and chemical considerations of the role of firmly and loosely bound fluoride in caries prevention. *J Dent Res*, 69 Spec No, 587-594; discussion 634-586.
- Wierichs, Kogel, Lausch, Esteves-Oliveira, & Meyer-Lueckel. (2017a). Effects of Self-Assembling Peptide P11-4, Fluorides, and Caries Infiltration on Artificial Enamel Caries Lesions in vitro. *Caries Res*, 51(5), 451-459.
- Wierichs, Lausch, Meyer-Lueckel, & Esteves-Oliveira. (2016). Re- and Demineralization Characteristics of Enamel Depending on Baseline Mineral Loss and Lesion Depth in situ. *Caries Res*, 50(2), 141-150.
- Wierichs, & Meyer-Lueckel. (2015). Systematic review on noninvasive treatment of root caries lesions. *J Dent Res*, 94(2), 261-271.
- Wierichs, Musiol, & Meyer-Lueckel. (2020a). Fluoridfrei wirkt nicht. *Zahnärztliche Mitteilungen* 110, 22/2020, 28-31.
- Wierichs, Rupp, Meyer-Lueckel, Apel, & Esteves-Oliveira. (2020b). Effects of Dentifrices Differing in Fluoride Content on Remineralization Characteristics of Dentin in vitro. *Caries Res*, 54(1), 75-86.
- Wierichs, Stausberg, Lausch, Meyer-Lueckel, & Esteves-Oliveira. (2018a). Caries-Preventive Effect of NaF, NaF plus TCP, NaF plus CPP-ACP, and SDF Varnishes on Sound Dentin and Artificial Dentin Caries in vitro. *Caries Res*, 52(3), 199-211.
- Wierichs, Westphal, Lausch, Meyer-Lueckel, & Esteves-Oliveira. (2018b). Influence of highly concentrated fluoride dentifrices on remineralization characteristics of enamel in vitro. *Clin Oral Investig*, 22(6), 2325-2334.
- Wierichs, Zelck, Doerfer, Appel, Paris, Esteves-Oliveira, & Meyer-Lueckel. (2017b). Effects of dentifrices differing in fluoride compounds on artificial enamel caries lesions in vitro. *Odontology*, 105(1), 36-45.

- Xu, & Wang. (2012). Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentine revisited. *Arch Oral Biol*, 57(4), 383-391.
- Zero. (1995). In situ caries models. *Adv Dent Res*, 9(3), 214-230; discussion 231-214.
- Zero, Raubertas, Fu, Pedersen, Hayes, & Featherstone. (1992). Fluoride concentrations in plaque, whole saliva, and ductal saliva after application of home-use topical fluorides [published eerratum appears in J Dent Res 1993 Jan;72(1):87]. *J Dent Res*, 71(11), 1768-1775.

**8 Anlagen****8.1 Darstellung der randomisierten Zuteilung der Zahnpasten**

Proband	Periode 1 Zahnpasta	Datum	Periode 2 Zahnpasta	Datum	Periode 3 Zahnpasta	Datum	Periode 4 Zahnpasta	Datum
2001	A		B		D		C	
2002	A		D		C		B	
2003	B		D		A		C	
2004	C		A		B		D	
2005	D		B		A		C	
2006	A		C		B		D	
2007	B		A		C		D	
2008	B		D		C		A	
2009	C		A		D		B	
2010	D		C		B		A	
2011	A		C		D		B	
2012	B		A		D		C	
2013	C		B		A		D	
2014	C		D		B		A	
2015	D		C		A		B	
2016	A		D		B		C	
2017	B		C		A		D	
2018	C		B		D		A	
2019	D		B		C		A	
2020	D		A		C		B	

Die ersten 7 Tage im Protokoll kennzeichnen die Einführungsphase, in welcher die Probanden ausschließlich mit der ausgeteilten Zahnpasta ihre Zähne geputzt haben. Nach den 7 Tagen wurde die Apparatur mit den eingebauten Proben ausgehändigt und die Tragedauer selbstständig von jedem Probanden eingetragen.

Name \_\_\_\_\_

Diagram showing four boxes labeled 1, 2, 3, and 4.

[illegible]

	K	1	2	3	M	T	F	A	
	K	1	2	3	M	T	F	A	
	K	1	2	3	M	T	F	A	
	K	1	2	3	M	T	F	A	
	K	1	2	3	M	T	F	A	
	K	1	2	3	M	T	F	A	
	K	1	2	3	M	T	F	A	

**Zucker:** Zuckerhaltige Süßigkeiten und Getränke: **keine**; **1**×täglich; **2**×täglich; **≥3**×täglich

**Fluorid:** Fluoridhaltige Mundhygieneprodukte (**M**) oder schwarzer, grüner oder Eis-Tee (**T**) oder Fisch mit viel Fluorid (**F**), andere stark fluoridhaltige Präparate oder Lebensmittel (**A**)

Der Geschmack der Zahnpasta ist (bitte ankreuzen):

**sehr gut**

**gut**

**mittel**

**schlecht**

## 9 Selbstständigkeitserklärung

### **Erklärung über die eigenständige Abfassung der Arbeit**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar eine Vergütung oder geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Die aktuellen gesetzlichen Vorgaben in Bezug auf die Zulassung der klinischen Studien, die Bestimmungen des Tierschutzgesetzes, die Bestimmungen des Gentechnikgesetzes und die allgemeinen Datenschutzbestimmungen wurden eingehalten. Ich versichere, dass ich die Regelungen der Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis kenne und eingehalten habe.

15.03.2021

.....

Datum

  
.....

Unterschrift

---

**10 Publikationen**

Teile der vorliegenden Dissertation wurden in den folgenden Publikationen vorveröffentlicht.

R.J. Wierichs, J. Musiol, D. Erdwey, M. Esteves-Oliveira, C. Apel, H. Meyer-Lueckel

**Re- and demineralization characteristics of dentin depending on fluoride application and baseline characteristics in situ**

Journal of Dentistry 94 (2020) 103305; DOI: 10.1016/j.jdent.2020.103305

R.J. Wierichs, J. Musiol & H. Meyer-Lueckel.

**Fluoridfrei wirkt nicht**

Zahnärztliche Mitteilungen 110, Nr. 22, 16.11.2020, (2163), Seite 28-31



**11 Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Prof. Dr. Marcella Esteves Oliveira und Prof. Dr. Hendrik Meyer-Lückel dafür, dass sie diese Doktorarbeit ermöglicht haben und mich während der gesamten Bearbeitungsphase meiner Dissertation wissenschaftlich und methodisch unterstützt haben.

Ich bedanke mich bei Privatdozent Dr. Richard Wierichs für die großartige wissenschaftliche Betreuung, für die Untersuchung der Probanden, die Einführung in die TMR/WIM-Software, für das Erstellen der Statistik, die gemeinsam veröffentlichten Publikationen und die Korrektur dieser Dissertation. Für die professionelle Einführung in die labortechnischen Gerätschaften und die sachkundige Unterstützung bei Fragen zur Bearbeitung der Proben, der Erstellung von Lösungen und die Durchführung der Fluoridmessung möchte ich mich bei Michael Stiebritz und Patricia Buttler bedanken. Mein Dank gilt auch Daniel Erdwey für die Erläuterung bezüglich der Erstellung der TMR-Filme und die Mitarbeit an der Probenherstellung. Zudem möchte ich Sabine Möller für die technische Unterstützung bei der Herstellung der Apparaturen danken.

Ein herzlicher Dank gilt meiner Familie und meinen Freunden, die mich stets in diesem Vorhaben unterstützt und motiviert haben. Abschließend möchte ich mich bei allen Probanden für die gewissenhafte Teilnahme an dieser Studie bedanken.